

VAKUUMIPUTKEN SOVELTUVUUS  
VIRTSANÄYTTEEN KÄSITTELYYN  
IRTOSOLUTUTKIMUKSEN  
YHTEYDESSÄ

Sirke Hatula  
Ninni Hyvärinen

Opinnäytetyö  
Lokakuu 2012  
Bioanalytiikan koulutusohjelma

TAMPEREEN AMMATTIKORKEAKOULU  
Tampere University of Applied Sciences

## TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu  
Bioanalytiikan koulutusohjelma  
K09MBIOAN

HATULA, SIRKE & HYVÄRINEN, NINNI:

Vakuumiputken soveltuvuus virtsanäytteen käsittelyyn irtosolututkimuksen yhteydessä

Opinnäytetyö 62 sivua, josta liitteitä 5 sivua  
Lokakuu 2012

---

Sytologista diagnostiikkaa käytetään pääasiassa pahanlaatuisten kasvainten havaitsemiseksi. Erilaisista näytemateriaaleista valmistettujen sytologisten irtosoluvalmisteiden mikroskooppisessa tarkastelussa kiinnitetään huomiota solujen mahdollisiin normaalista poikkeaviin muutoksiin. Virtsan irtosolututkimuksen yleisin indikaatio on epäily pahanlaatuisesta kasvaimesta virtsateissä, ja irtosolututkimuksen avulla voidaan myös arvioida syövän hoitotasapainoa.

Opinnäytetyön aihe saatiin Päijät-Hämeen sosiaali- ja terveydenhuollon kuntayhtymän patologian laboratoriosta, joka on osa yhtymän lääketieteellisten palvelujen keskusta. Yhtymän jäsenkuntien laboratorioihin haluttiin ottaa käyttöön vakuumiputki virtsan irtosolunäytteen esikäsittelyvaiheeseen. Nykyinen käytäntö yhtymän jäsenkuntien laboratorioissa on, että virtsan irtosolunäyte kaadetaan tai pipetoidaan tavallisiin putkiin. Opinnäytetyön tavoite oli tuottaa patologian laboratorion henkilökunnalle tietoa vakuumiputken soveltuvuudesta virtsanäytteen käsittelyyn irtosolututkimuksen yhteydessä. Opinnäytetyön tarkoitus oli vertailla virtsan irtosoluvalmisteiden ominaisuuksia nykyisellä menetelmällä käsitellyistä ja vakuumiputkeen imetyistä virtsanäytteistä. Virtsan irtosoluvalmisteiden vertailussa kiinnitettiin huomiota uroteelisolujen määrään, morfologiaan, ryhmittymiseen ja irtosoluvalmisteen Papanicolaou-luokkaan.

Opinnäytetyön tutkimusmenetelmä oli kvantitatiivinen sekä kokeellinen. Näytemateriaali rajattiin koskemaan vain Päijät-Hämeen keskussairaalan poliklinisessa näytteenotossa annettuja virtsan irtosolunäytteitä (n=29) näytemateriaalin vakioimiseksi. Jokaisesta näytteestä valmistettiin virtsan irtosoluvalmiste nykyisellä menetelmällä ja vakuumiputkeen imettynä. Tutkimusaineisto koostui mikroskoopin avulla tehdyistä havainnoista, jotka tehtiin 29 virtsanäytteestä rinnakkain valmistetusta eli yhteensä 58 virtsan irtosoluvalmisteesta.

Virtsan irtosoluvalmisteiden vertailussa uroteelisolujen määrässä ja morfologiassa ei havaittu merkittäviä eroavaisuuksia. Suurimmat eroavaisuudet havaittiin uroteelisolujen ryhmittymisessä. Tämä aiheutti muutaman vertailtavan valmisteen välillä myös Papanicolaou-luokan muuttumisen. Tästä johtuen varmuus vakuumiputken soveltuvuudesta virtsanäytteen käsittelyyn irtosolututkimuksen yhteydessä edellyttää lisätutkimuksia.

---

Avainsanat: Papanicolaou-luokitus, uroteelisolu, vakuumiputki, virtsan irtosolututkimus.

## ABSTRACT

Tampereen ammattikorkeakoulu  
Tampere University of Applied Sciences  
Degree Programme in Biomedical Laboratory Science  
K09MBIOAN

HATULA, SIRKE & HYVÄRINEN, NINNI:  
The Suitability of Vacuum Tube in Handling of Urine in the Exfoliative Cytology

Bachelor's thesis 62 pages, appendices 5 pages  
October 2012

---

The objective of this study was to examine whether the vacuum tube is suitable in handling of urine in the exfoliative cytology of the urine. The subject of this study was provided by the laboratory of pathology that is part of the Centre for Medical Services of the Päijät-Häme Social and Health Care Group. The purpose of this study was to compare the characteristics of the urine cytologic slides that were prepared by using two different techniques.

This study was quantitative in nature and the specimen material consisted of 29 voided urine samples given in Päijät-Häme Central Hospital. Each urine sample was divided into two specimens and then handled both with the current technique and by means of vacuum tube. The data comprised of the observations made by microscoping a total of 58 urine cytologic slides. The observations concentrated on the amount, the morphology and the grouping of the urothelial cells and the Papanicolaou classification of the urine cytologic slides.

The findings show that there were some changes between the characteristics of the urine cytologic slides prepared by two different techniques, especially in the grouping of the urothelial cells. The results indicate that the vacuum tube may not be suitable for handling urine in the exfoliative cytology of the urine but more study is needed on the issue.

---

Key words: Papanicolaou classification, urine cytology, urothelial cell, vacuum tube.

## SISÄLLYS

1 JOHDANTO .....	5
2 VIRTSAKERITYSJÄRJESTELMÄ .....	7
2.1 Virtsakeritysjärjestelmän anatomia .....	7
2.2 Virtsateiden välimuotoinen epiteeli eli uroteeli .....	9
2.3 Virtsateiden syövät .....	10
2.3.1 Virtsarakkosalöä .....	11
2.3.2 Muut virtsateiden syövät.....	12
3 VIRTSAK IRTOSOLUTUTKIMUS .....	13
3.1 Indikaatiot.....	13
3.2 Näytteenotto ja preanalytiikka.....	13
3.3 Virtsan irtosoluvalmisteen valmistus .....	16
3.4 Virtsan irtosoluvalmisteen värjäys .....	17
3.5 Virtsan irtosolututkimuksen spesifisyys ja sensitiivisyys .....	18
4 VIRTSAK IRTOSOLUVALMISTEEN MIKROSKOOPPIK	
TARKASTELU JA PAPANICOLAOU-LUOKITUS .....	20
4.1 Sytologisen diagnostiikan perusteita .....	20
4.2 Papanicolaou-luokka I.....	22
4.3 Papanicolaou-luokka II.....	26
4.4 Papanicolaou-luokat III-V .....	28
5 VAKUUMIPUTKI.....	31
5.1 Vakuumiputki virtsan tutkimuksissa .....	31
5.2 Aikaisemmat tutkimukset.....	32
6 OPINNÄYTETYÖK TAVOITE JA TARKOITUS .....	33
7 OPINNÄYTETYÖK MENETELMÄ JA TOTEUTUS.....	34
7.1 Tutkimusmenetelmä .....	34
7.2 Tutkimusaineiston hankinta .....	35
7.2.1 Virtsan irtosoluvalmisteiden valmistus.....	37
7.2.2 Virtsan irtosoluvalmisteiden tarkastelu .....	41
8 TUTKIMUSTULOKSET .....	44
9 POHDINTA .....	48
9.1 Johtopäätökset ja tulosten tarkastelu .....	48
9.2 Opinnäytetyök luotettavuus ja eettisyys .....	49
LÄHTEET.....	54
LIITTEET .....	58
Liite 1. Virtsan irtosolututkimuksen potilasohje.....	58
Liite 2. Vastausesimerkki virtsan irtosoluvalmisteesta patologian laboratoriossa...	59
Liite 3. Havainnointitaulukko.....	60

## 1 JOHDANTO

Aihe opinnäytetyöhön saatiin Päijät-Hämeen sosiaali- ja terveydenhuollon kuntayhtymän patologian laboratorion, joka on osa kuntayhtymän lääketieteellisten palvelujen keskusta. Tässä opinnäytetyössä patologian laboratorioon viitattaessa tarkoitetaan edellä mainittua laboratoriota. Patologian laboratorio vastaanottaa vuosittain noin 1500 virtsan irtosolunäytettä, ja virtsan irtosolututkimus (U-Syto) on gynekologisen irtosolututkimuksen jälkeen toiseksi yleisin sytologinen tutkimus patologian laboratoriossa (Remola-Pärssinen 2011–2012). Päijät-Hämeen keskussairaalan sijaitsevan polikliinisen näytteenottopisteen lisäksi näytteitä toimitetaan patologian laboratorioon myös yhtymän jäsenkuntien laboratorioista. Jäsenkuntia ovat Hartola, Heinola, Iitti, Lahti, Myrskylä, Nastola, Orimattila, Pukkila ja Sysmä. Lisäksi Asikkala, Hollola, Hämeenkoski, Kärkölä ja Padasjoki ovat sopineet laboratoriopalvelujen järjestämisestä Päijät-Hämeen sosiaali- ja terveydenhuollon kuntayhtymällä.

Yhtymän jäsenkuntien laboratorioissa annetut virtsan irtosolunäytteet esikäsitellään paikan päällä ja lähetetään sen jälkeen patologian laboratorioon virtsan irtosoluvalmisteiden valmistusta ja analysointia varten. Virtsan irtosolunäytteet esikäsitellään siten, että näyte kaadetaan tai siirretään pipetillä 10 millilitran putkiin, jonka jälkeen se sentrifugoidaan ja fiksoidaan. Yhteistyökumppani halusi saada tietoa siitä, soveltuuko vakuumiputki virtsanäytteen esikäsittelyyn irtosolututkimuksen yhteydessä. Virtsanäytteestä voidaan virtsan irtosolututkimuksen lisäksi tarvittaessa tehdä muita tutkimuksia, kuten mikrobiologisia ja kemiallisia tutkimuksia sekä virtsan sakan mikroskooppisia tutkimuksia. Vakuumiputken käyttöönotto nopeuttaisi virtsanäytteen esikäsittelyvaihetta, kun virtsanäyte voitaisiin imeä vakuumiputkeen samalla tavalla kuin muitakin tutkimuksia varten. Lisäksi vakuumiputken käyttöönotto tekisi työskentelystä hygieenisempää ja parantaisi työturvallisuutta, kun virtsa voitaisiin siirtää putkeen suljetun systeemin avulla.

Päijät-Hämeen keskussairaalan polikliinisessä näytteenottopisteessä annetut virtsan irtosolunäytteet toimitetaan patologian laboratorioon välittömästi näytteenannon jälkeen. Keskussairaalan polikliinisessä näytteenottopisteessä annettujen virtsan irtosolunäytteiden esikäsittely eroaa yhtymän jäsenkuntien laboratorioista lähetettyjen

virtsan irtosolunäytteiden käsittelystä siten, että ne siirretään suurempaan, 50 millilitran sentrifugiputkeen sentrifugointia ja fiksointia varten.

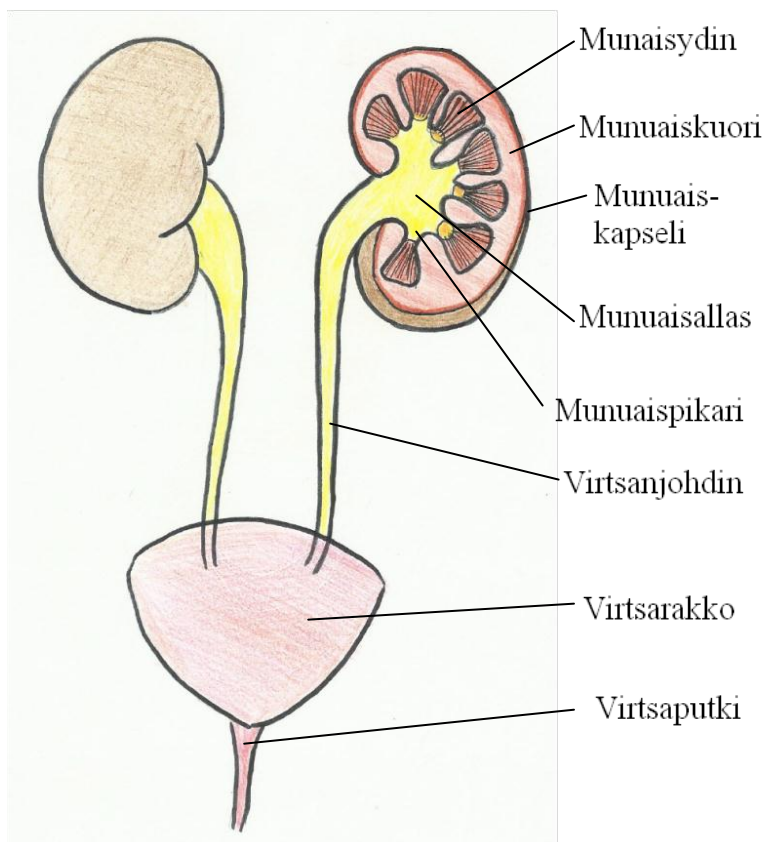
Opinnäytetyön tarkoitus on vertailla virtsan irtosoluvalmisteiden ominaisuuksia nykyisellä menetelmällä käsitellyistä ja vakuumiputkeen imetyistä virtsanäytteistä. Vertailussa kiinnitetään huomiota virtsan irtosoluvalmisteiden uroteelisolujen määrään, morfologiaan, ryhmittymiseen ja irtosoluvalmisteen Papanicolaou-luokkaan. Nykyisellä menetelmällä tarkoitetaan tässä opinnäytetyössä menetelmää, jota käytetään Päijät-Hämeen sosiaali- ja terveystyhtymän patologian laboratoriossa. Vakuumiputkina käytetään säilöntäaineettomia 11 millilitran BD Vacutainer® -vakuumiputkia. Opinnäytetyön tavoitteena on tuottaa yhteistyökumppanille eli Päijät-Hämeen sosiaali- ja terveystyhtymän patologian laboratorion henkilökunnalle tietoa vakuumiputken soveltuvuudesta virtsanäytteen käsittelyyn irtosolututkimuksen yhteydessä.

Opinnäytetyössä käsitellään teoreettiset ja tutkimusmenetelmälliset lähtökohdat sekä kokeellinen suoritus ja siitä saadut tulokset ja tehdyt johtopäätökset. Opinnäytetyössä otokseksi rajattiin Päijät-Hämeen keskussairaalan polikliinisessä näytteenottopisteessä annetut virtsan irtosolunäytteet. Tässä opinnäytetyössä ei tutkita katetrilla tai rakkohuuhteluina otettuja virtsan irtosolututkimuksia. Opinnäytetyön tarkoituksena ei ole tutkia solujen ajallista säilyvyyttä vakuumiputkessa.

## 2 VIRTSAKERITYSJÄRJESTELMÄ

### 2.1 Virtsaneritysjärjestelmän anatomia

Virtsaneritysjärjestelmään kuuluu kaksi munuaista, kaksi munuaisallasta, kaksi virtsanjohdinta, virtsarakko ja virtsaputki (kuva 1) (Sand, Sjaastad, Haug & Bjälle 2011, 474). Virtsaneritysjärjestelmän tehtävä on ylläpitää elimistön neste- ja elektrolyyttitasapainoa sekä poistaa elimistöstä kuona-aineita. Munuaisissa suodattuu vuorokaudessa noin 180 litraa alkuvirtsaa, josta lopullista virtsaa muodostuu noin 1,5 litraa. (Zuidema 1997, 149; Bjälle ym. 2007, 384–385; Alahuhta ym. 2008, 24–26.) Munuaisaltaat, virtsanjohtimet, virtsarakko ja virtsaputki muodostavat virtsatiet, jota pitkin virtsa poistuu elimistöstä (Sand ym. 2011, 452, 474). Virtsaputkea lukuun ottamatta virtsaneritysjärjestelmän osat ovat naisilla ja miehillä samanlaiset (Zuidema 1997, 149). Miehillä virtsateihin liittyvät lisäksi eturauhanen, siemenrakkulat ja siemenjohtimet (Koivuniemi 1994, 271).



KUVA 1. Virtsaneritysjärjestelmä (Mukaillen Bjälle ym. 2007, 377, 379)

Munuaiset sijaitsevat dorsaali- eli selkäpuolella selkärangan molemmin puolin siten, että niiden etupuolta peittää vatsakalvo (Alahuhta ym. 2008, 16; Sand ym. 2011, 452). Oikea munuainen sijaitsee yleensä alempana kuin vasen (Zuidema 1997, 149). Munuainen voidaan kudoksellisesti erottaa kolmeen osaan. Uloimpana on sidekudoksinen kotelo, munuaisen kapseli (*capsula renalis*). Kapselin alla on munuaisen kuorikerros (*cortex*) ja sisimpänä munuaisen ydin (*medulla*). (Alahuhta ym. 2008, 16–17.) Ydin sisältää 10–15 pyramidin muotoista lohkoa, joissa sijaitsee yhteensä noin miljoona munuaisten toiminnallista yksikköä eli nefronia (King Strausinger & Schaub di Lorenzo 2001, 10; Sand ym. 2011, 453). Nefronit koostuvat munuaiskeräsestä ja munuaistiehyestä eli tubuluksesta. Munuaiskeräsen sisällä sijaitsee hiusuonikeränen eli glomerulus, jota ympäröi Bowmanin kotelo. Munuaiskeräsestä lähtevä tubulus voidaan jakaa kolmeen osaan: proksimaaliseen kiemuratiehyeseen, Henlen linkoon ja distaaliseen kiemuratiehyeseen. (Alahuhta ym. 2008, 17.)

Tubuluksen distaalinen kiemuratiehyt laskee kokoojaputkeen, joka jatkuu munuaisaltaaseen (Alahuhta ym. 2008, 17). Munuaisallas koostuu pikarimaisista haaraumista eli munuaispikareista, jotka keräävät ytimen munuainnystyistä tiukuvan virtsan. Munuaisallas kaventuu vähitellen ja muuttuu virtsanjohtimeksi. Noin 25 senttimetrin pituiset, molemmista munuaisista lähtevät ohuet virtsanjohtimet ovat koko pituudeltaan vatsakalvon peitossa. Virtsanjohtimet yhtyvät alempana virtsarakkoon kulkien vinosti virtsarakon seinämän läpi. (Sand ym. 2011, 453, 474–475.)

Virtsarakko sijaitsee lantion korkeudella häpyliitoksen takana (Ross & Pawlina 2006, 671). Virtsarakko on pyöreänmuotoinen, ontto ja lihaksikas elin, joka voi laajentua ja supistua riippuen sen sisältämästä virtsamäärästä (Zuidema 1997, 150; Bancroft & Gamble 2002, 655). Tyhjänä virtsarakon seinämä on paksu ja poimittunut, mutta rakon täyttyessä virtsalla rakon seinämä ohenee ja poimut silottuvat (Sand ym. 2011, 475). Virtsanjohdinten kaksi tuloaukkoa ja virtsaputken lähtöaukko muodostavat virtsarakossa kolmiomaisen alueen, trigonumin, joka pysyy jatkuvasti tasaisen paksuisena (Ross & Pawlina 2006, 671).

Virtsarakosta lähtee virtsaputki, joka on naisilla suora, 3–4 senttimetriä pitkä ja miehillä s-kirjaimen muotoinen, noin 20 senttimetriä pitkä. Paksuuntunut alue virtsaputken alkupään seinämän sileässä lihaksessa muodostaa virtsaputken sisemmän



sulkijalihaksen, joka estää virtsan valumisen virtsarakosta virtsaputkeen virtsaamiskertojen välillä. (Sand ym. 2011, 475.) Alempana virtsaputki läpäisee lantion lihaslevyn. Lihaslevyssä sijaitsee ulomman virtsaputken sulkijalihas, jonka avulla virtsaamista voidaan säädellä tahdonalaisesti. Miehellä virtsaputki kulkee lisäksi eturauhasen läpi ja siittimessä paisuvaisen sisällä. (Alahuhta ym. 2008, 19; Sand ym. 2011, 475.)

Virtsateiden rakenne on virtsaputkea lukuun ottamatta kaikkialla samankaltaista muodostuen limakalvosta, sitä ympäröivästä lihaskerroksesta sekä sidekudoksisesta ulkokerroksesta (Ross & Pawlina 2006, 669). Virtsateiden limakalvo koostuu suurimmaksi osaksi kerrostuneesta välimuotoisesta epiteelistä ja sidekudoksesta. Limakalvoa ympäröivä lihaskerros muodostuu sisemmästä pitkittäisestä ja ulommasta rengasmaisesta lihaskerroksesta. (Sand ym. 2011, 474.)

## **2.2 Virtsateiden välimuotoinen epiteeli eli uroteeli**

Ihmiskehon kaikki pinnat ja ontelot ovat erilaisten pinta- eli epiteelisolujen peittämiä. Epiteelisolut muodostavat niiden alla olevia kudoksia suojaavan kerroksen, joka voi muodostua muun muassa levy-, kuutio-, lieriö- ja välimuotoisista epiteelisolusta. Epiteelisolut ovat kiinni niiden alla sijaitsevassa tyvikalvossa. Tyvikalvon alla sijaitsee side- ja tukikudoskerros sekä verisuonia. Limakalvoissa sidekudoskerros on nimeltään lamina propria. (Koivuniemi 1994, 7.)

Virtsateiden limakalvoa reunustavaa kerrostunutta välimuotoista epiteeliä esiintyy vain virtsateissä, minkä vuoksi epiteeli on saanut nimityksen uroteeli. (Sand ym. 2011, 474.) Uroteeli verhoaa munuaispikareita, munuaisaltaita, virtsanjohtimia, virtsarakkoa ja virtsaputken alkupäätä. Uroteeli alkaa munuaispikareissa kaksikerroksisena ja paksuuntuu vähitellen siten, että virtsanjohtimissa sen paksuus on neljästä viiteen kerrosta. Tyhjässä virtsarakossa uroteelin paksuus on kuusi kerrosta tai enemmän, mutta virtsarakon venyessä kerrokset vähenevät. (Ross & Pawlina 2006, 669.) Uroteelisolujen muoto muuttuu virtsateiden laajetessa ja supistuessa. Lepotilassa, kun virtsateissä on vain vähän virtsaa, uroteelin ja sidekudoskerroksen muodostama limakalvo on poimuttunut ja uroteelisolut ovat muodoltaan kuutiomaisia. Virtsateiden venyessä limakalvon poimut häviävät ja uroteelisolut litistyvät. (Sand ym. 2011, 474.)

Virtsarakon trigonumin alueella sekä virtsaputken alaosissa on sarveistumatonta levyepiteeliä (Koivuniemi 1994, 271).

### 2.3 Virtsateiden syövät

Suomen Syöpärekisterin mukaan vuonna 2010 uusia virtsateistä lähtöisin olevia syöpiä ilmeni miehillä 701 ja naisilla 197 kappaletta. Miesten kohdalla ilmaantuvuus oli 4,7 % kaikista uusista syöpätapauksista, ja naisilla vastaava luku oli 1,4 %. Lisäksi miehillä rekisteröitiin 115 ja naisilla 23 PUNLMP- (papillary urothelial neoplasm of low malignant potential) ja karsinoma in situ-tapausta (Suomen Syöpärekisteri 2012.) Vuoden 2011 alussa virtsateiden syöpää sairastavia miespotilaita oli 5692 henkilöä ja naispotilaita 1827 henkilöä. Lisäksi virtsarakon PUNLMP:ia ja karsinoma in situ sairastavia henkilöitä oli vuoden 2011 alussa 583 miestä ja 143 naista. (Suomen Syöpärekisteri 2012.)

Valtaosa virtsateiden syöivistä saa alkunsa virtsateitä verhoavasta uroteelistä (Sequeiros, Nurmi & Salminen 2007, 411). Maailman Terveysjärjestön (WHO) luokituksessa vuodelta 1973 uroteelin kasvaimet jaetaan histologisesti kolmeen erilaistumisasteeseen eli gradukseen. Gradus 1-luokan syöpäkasvain on parhaiten erilaistunut, hitaasti kasvava ja helpoiten hoidettavissa oleva kasvain. Gradus 2-luokan syöpäkasvain on kohtalaisesti erilaistunut kasvain ja gradus 3-luokan syöpäkasvain huonoiten erilaistunut, herkemmin leviävä kasvain. (Raitanen ym. 2008, 1651; Sequeiros ym. 414; Syöpäjärjestöt 2008.)

Vuoden 2004 uudemmassa luokituksessa WHO/ISUP:n (International Society of Urological Pathology) mukaan uroteelikasvainten erilaistumisasteita ovat papillooma, PUNLMP (Papillary Urothelial Neoplasm of Low Malignant Potential) sekä low grade- ja high grade- pahanlaatuisuusasteen syöpäkasvaimet (Sequeiros ym. 2007; Raitanen ym. 2008, 1651; 414; Syöpäjärjestöt 2008). Virtsateiden papillooma on benigni eli hyvänlaatuinen, ulokkeita muodostava kasvaintyyppi (Syöpäjärjestöt nd). PUNLMP eli suomeksi niin kutsuttu uroteelineoplasia on uroteelin neoplastinen muutos, joka ei ole pahanlaatuinen eli maligni, mutta ei kuitenkaan täysin benigni muutos. Vanhemmassa luokituksessa se sijoittuu papillooman ja gradus 1-luokan kasvaimen väliin. Low grade tarkoittaa pienen ja high grade suuren malignisuusasteen syöpäkasvainta. (Raitanen ym.

2008, 1651.) Virtsarakon karsinoma in situ (CIS) tarkoitetaan intraepiteliaalista eli uroteeliin rajoittunutta, litteästi kasvavaa kasvainta. Karsinoma in situissa maligneja uroteelisoluja voi olla koko uroteelin paksuudelta, mutta ne eivät ole kuitenkaan läpäisseet tyvikalvoa. Karsinoma in situ on yleensä maligni kasvain, ja sillä on taipumus myöhemmin muuttua invasiiviseksi kasvaimeksi. (Sequeiros ym. 2007, 414; Nese, Gupta, Bui & Amin 2009, 48–57.)

### 2.3.1 Virtsarakkosyöpä

Virtsateiden syöivistä suurin osa, noin 90–95 %, on lähtöisin virtsarakosta (Pekkarinen ym. 2011, 1825–1827). Virtsarakkosyöivistä 75–85 % on virtsarakon sisäpintaan rajoittuvia pinnallisia, invasoitumattomia kasvaimia. Näillä pinnallisilla kasvaimilla on taipumus uusiutua noin kahden vuoden sisällä, mutta niiden ennuste on siitä huolimatta hyvä. Virtsarakkosyöivistä 20–25 % on lihasseinämään levinneitä, joista pieni osa on metastasoitunut. Nämä kasvaimet ovat ennusteeltaan merkittävästi huonompia kasvaimia. (Raitanen ym. 2008, 1648; Villicana, Whiting, Goodison & Rosser 2009, 265–274.) Virtsarakon seinämään levinnyt kasvain voi tuottaa etäpesäkkeitä esimerkiksi maksaan, keuhkoihin tai luustoon (Syöpäjärjestöt 2008).

Virtsarakkosyövän levinneisyyttä voidaan kuvata kansainvälisellä TNM-luokituksella, jossa tarkastellaan kasvaimen tunkeutumista virtsarakon seinämään (T=tumor), mahdollista leviämistä läheisiin imusolmukkeisiin (N=nodus) sekä mahdollisten etäpesäkkeiden esiintymistä (M=metastasis). Virtsarakon syöpä voi T-luokan mukaan olla pinnallinen, paikallisesti levinnyt tai etäämmälle levinnyt syöpämuoto. (Syöpäjärjestöt 2008.) Imusolmukemuutoksista tarkastellaan muutosten kokoa ja lukumäärää, ja etäpesäkkeistä niiden mahdollista esiintymistä. (Raitanen ym. 2008, 1650).

Virtsarakkosyövän tavallisin ensioire on kivuton verivirtsaisuus. Joka viides makrohematurialöydös (silmin näkyvä verivirtsaisuus) liittyy virtsarakon maligniin kasvaimeen, minkä vuoksi makrohematurian toteaminen edellyttää aina jatkotutkimuksia. Virtsarakkokasvain ei kuitenkaan välttämättä aiheuta jatkuvaa verenvuotoa, joten yksittäinen virtsanäyte ei aina sisällä verta. (Raitanen 2010, 2741; Pekkarinen ym. 2011, 1825–1827.) Mikrohematurialöydöksistä (mikroskooppisesti

havaittava verivirtsaisuus) vain muutama prosentti paljastuu virtsarakkosyövän aiheuttamaksi. (Raitanen 2010, 2741). Mikrohematuriaa tavataan myös terveillä henkilöillä sekä virtsateiden tulehdustilojen, virtsatiekivien ja eturauhasen liikakasvun yhteydessä. Mikrohematurian yhteys uroteelin syöpiin ja mikrohematuriaan liittyvien jatkotutkimusten tarpeellisuus on toistaiseksi epäselvä. (Pekkarinen ym. 2011, 1825–1827.) Pidemmälle edenneessä virtsarakkosyövässä oireina voi lisäksi esiintyä erilaisia virtsarakon ärsytysoireita, kuten tihentynyttä virtsaamistarvetta ja virtsaamispakon tunnetta. (Raitanen ym. 2000, 1825–1827.)

### **2.3.2 Muut virtsateiden syövät**

Munuaisaltaasta, virtsanjohtimesta ja virtsaputkesta lähtöisin olevat syövät ovat virtsarakkosyöpää harvinaisempia (Syöpäjärjestöt 2008). Kuten virtsarakon kasvaimet, myös munuaisaltaan ja virtsanjohtimen kasvaimet ovat useimmiten uroteeliperäisiä. Uroteelin syöivistä alle kymmenesosa on lähtöisin munuaisaltaista ja virtsanjohtimista. Näitä syöpiä sairastavista henkilöistä noin puolella tavataan syöpäsolukkoa myös virtsarakossa. Virtsarakkosyöpään sairastuneista henkilöistä vain muutamilla henkilöillä tavataan ylempiin virtsateihin kehittynyt kasvain, mutta joissain tapauksissa pinnallinen virtsarakkosyöpä voi myöhemmin levitä virtsaputkeen. Virtsaputken malignit kasvaimet voivat olla levyepiteeli-, uroteeli- tai miehillä lisäksi rauhasepiteeliperäisiä. (Sequeiros ym. 2007, 411–412, 419.)

Myös munuaisaltaan, virtsanjohtimen ja virtsaputken syöpäkasvaimet aiheuttavat usein verivirtsaisuutta. Munuaisaltaan ja virtsanjohtimen kasvainten kohdalla verivirtsaisuuden lisäksi voi esiintyä virtsaamis- ja kylkikipua sekä virtsatieinfektioita. Virtsaputken kasvain oireilee etenkin miehillä kivuliaana verivirtsaisuutena, ja naisilla kasvain voi virtsaputken limakalvoa rikkoessaan muodostaa vuotavan haavauman. (Sequeiros ym. 2007, 412, 419.)

### 3 VIRTSAAN IRTOSOLUTUTKIMUS

#### 3.1 Indikaatiot

Virtsan irtosolututkimuksen yleisin aihe eli indikaatio on epäily malignista kasvaimesta virtsateissä (Koivuniemi 1994, 269). Virtsan irtosolututkimus perustuu virtsateiden kasvaimesta virtsaan irronneiden syöpäsolujen mikroskooppiseen tunnistamiseen (Raitanen ym. 2008, 1648–1656). Tutkimusta käytetään virtsateiden kasvainten diagnostiikassa yhdessä virtsarakon tähystyksen eli kystoskopian, ja virtsateiden ultraääni- ja varjoainetutkimusten kanssa. (Raitanen, Marttila & Tammela 2000, 573–577; Pekkarinen ym. 2011, 1825–1827). Virtsan irtosolututkimuksen avulla voidaan saada tietoa maligneista muutoksista koko virtsateiden matkalta (Gray & McKee 2002, 471). Virtsan irtosolututkimuksen avulla voidaan myös arvioida virtsateiden syövän hoitojen vaikuttavuutta ja todeta mahdollinen kasvaimen uusiutuminen. Lisäksi tutkimusta voidaan käyttää apuna pitkittyneiden virtsausvaivojen ja uusiutuvien virtsateiden infektioiden selvittelyssä ja hoidossa. (Koivuniemi 1994, 269.)

Virtsan irtosolututkimuksen etuihin voidaan lukea tutkimuksen korkea spesifisyys, nopea tulkinta, valmisteen tulkintaan tarvittavan välineistön vähäiset kustannukset ja vähäinen potilaan valmistelu (Villicana ym. 2009, 265–274). Tutkimuksen haittapuolia ovat väärin negatiivisten, ja väärin positiivisten solulöydösten mahdollisuus. Väärä negatiivinen solulöydös tarkoittaa, että näytteessä olemassa olevat malignit muutokset jäävät tutkimuksesta huolimatta huomaamatta. Väärä positiivinen solulöydös tarkoittaa, että näytteessä havaitaan malignisuuteen viittaavia solumuutoksia, jotka eivät todellisuudessa ole maligneja. Virtsan irtosolututkimuksesta saatavien tulosten luotettavuus on riippuvainen koko sytologisen tutkimusprosessin onnistumisesta, johon vaikuttavat näytteenotto, itse näyttemateriaali, irtosoluvalmisteen valmistusvaihe sekä esitarkastajan ja sytologin pätevyys. (Koivuniemi 1994, 14–16.)

#### 3.2 Näytteenotto ja preanalytiikka

Koivuniemen (1994, 269) mukaan virtsan irtosolututkimusta varten otetaan 20–50 millilitraa keski- tai loppuvirtsaa. Keskivirtsalla tarkoitetaan näytettä, joka otetaan

virtsasuihkun keskeltä. Sen tarkoituksena on välttää iholta ja ulkoisista sukuelimistä peräisin olevien solujen ja muiden partikkelien joutuminen virtsanäytteeseen. Ennen näytteen antoa virtsaputken ulkosuu tulee puhdistaa huolellisesti vedellä. (Tuokko, Rautajoki & Lehto 2008, 64–65.) Virtsan irtosolututkimusta varten virtsanäyte suositellaan otettavaksi 3-5 peräkkäisenä päivänä. Aamun ensimmäinen virtsanäyte on runsassoluisin pitkän rakkoajan ansiosta, mutta toisaalta pitkästä rakkoajasta johtuva solujen degeneroituminen ja solujen morfologisten yksityiskohtien häviäminen kumooa lisääntyneestä solujen määrästä saadun hyödyn. Tämän takia aamun ensimmäistä virtsaa tai keräysvirtsaa ei suositella virtsan sytologisiin tutkimuksiin. (Koivuniemi 1994, 269; Layfield ym. 2003, 25; Atkinson 2004, 232–233.) Degeneraatio aiheuttaa soluissa muun muassa tuman pyknoosia eli kutistumista sekä kromatiinin kokkaroitumista ja kromatolyysiä eli hajoamista. Myös koko tuman hajoamista eli karyolyysiä voi esiintyä. (Koivuniemi 1994, 8.) Edellä mainituista syistä johtuen näyte voidaan ottaa myös nesteen antamisen jälkeen. Tällöin potilas juo nestettä puolesta litrasta litraan enintään kahden tunnin sisällä, jonka jälkeen eritetty virtsa on laimeaa ja soluja on vähemmän, mutta ne ovat hyväkuntoisia. (Koivuniemi 1994, 269.)

Annettu virtsanäyte tulee toimittaa laboratorioon käsiteltäväksi mahdollisimman nopeasti. Tarpeen vaatiessa näytettä voidaan säilyttää lyhyt aika jääkaappilämpötilassa. Näyte tulee fiksoida mahdollisimman pian näytteenannon jälkeen samaan määrään 50-prosenttista etanolia. Suositeltavampaa kuitenkin on, että virtsanäyte sentrifugoidaan ensin ja putken pohjalle jäävä solusakka sekoitetaan etanolipohjaiseen fiksatiiviin. Vaihtoehtoisesti fiksatiivina voidaan käyttää 50-prosenttista isopropyylialkoholia tai denaturoitua alkoholia. Fiksaation ansiosta virtsanäyte säilyy useita päiviä, mutta samalla se voi aiheuttaa virtsan soluissa jonkin verran morfologisia muutoksia. Virtsan osmolaliteetilla eli ionivahvuudella ei näyttäisi olevan merkittävää vaikutusta solujen säilyvyyteen fiksoidussa näytteessä toisin kuin virtsan pH:lla. Virtsan solut säilyvät mahdollisesti paremmin matalassa kuin korkeassa pH:ssa. (Layfield ym. 2003, 25.) Oikea näytteenotto- ja fiksaatiotekniikka on virtsanäytteiden sytologisen diagnostiikan onnistumiselle välttämätöntä (Koivuniemi 1994, 269).

Päijät-Hämeen sosiaali- ja terveysyhtymän patologian laboratorion ohjekirjassa virtsan irtosolututkimusta varten kehoitetaan ottamaan näytteeksi noin 50 millilitraa puhtaasti laskettua keskivirtsaa. Edellisestä virtsaamisesta tulee olla kulunut 2 - 4 tuntia, eli yön yli rakossa ollut virtsa ei kelpaa näytteeksi. Asiakkaalle annetaan tarvittaessa kirjallinen

ohje virtsanäytteenottoa koskien (liite 1). Virtsan irtosolututkimus tehdään sarjatutkimuksena, jota varten näyte otetaan kolmena eri päivänä. Päijät-Hämeen keskussairaalan poliklinisessa näytteenottopisteessä annetut virtsan irtosolunäytteet toimitetaan heti näytteenannon jälkeen sellaisenaan patologian laboratorioon. Patologian laboratorion henkilökunnalle tulee ilmoittaa tuodusta virtsanäytteestä. Tartuntavaarallista näytettä ei kuitenkaan viedä sellaisenaan, vaan se sekoitetaan heti näytteenannon jälkeen yhtä suureen määrään 96-prosenttista etanolia. Päivystysnäytteiden kanssa toimitaan samoin kuin tartuntavaarallisten näytteiden kanssa, mutta näytteenantoa päivystysaikana ei kuitenkaan suositella. Etanoliin sekoitettu näyte säilytetään huoneenlämmössä, kunnes se toimitetaan patologian laboratorioon. (PHSOTEY Patologia 2008.)

Patologian laboratorioon toimitettu virtsanäyte konsentroidaan ja fiksoidaan. Konsentroitua varten virtsanäyte siirretään tavalliseen 50 millilitran sentrifugointiputkeen, jota sentrifugoidaan tavallisella sentrifugilla 15 minuutin ajan nopeudella 1500 rpm (=radiations per minute, kierrosta minuutissa). Sentrifugoinnin jälkeen putken pohjalle konsentroituneiden solujen eli solusakan päälle jäävä nestekerros eli supernatantti kaadetaan pois. Solut fiksoidaan lisäämällä niiden päälle 10 millilitraa polyetyleeniglykoli-etanolia (PEG-etanoli). PEG-etanoliliuos on polyetyleeniglykolin suhteen 4,9-prosenttista ja etanolin suhteen 50-prosenttista. Solususpension annetaan fiksoitua yön yli (Remola-Pärssinen 2011–2012.)

Päijät-Hämeen sosiaali- ja terveydenhuollon kuntayhtymän jäsenkuntien laboratorioissa annettu virtsanäyte pipetoidaan tai kaadetaan heti näytteenannon jälkeen 10 millilitran sentrifugiputkiin, joita sentrifugoidaan 15 minuutin ajan nopeudella 1500 rpm. Sentrifugoinnin jälkeen jokaisen putken pohjalle konsentroituneen solusakan päälle jäänyt supernatantti kaadetaan pois ja solusakan päälle lisätään vähintään 10 millilitraa 50-prosenttista etanolia, johon solusakka sekoitetaan. Jos näytettä ei ole mahdollista sentrifugoida, niin virtsa sekoitetaan samaan määrään 50-prosenttista etanolia. Jos näyte otetaan kotona, se on säilytettävä kylmässä ja toimitettava laboratorioon tunnin kuluessa. Näytteen huonon säilyvyyden vuoksi on kuitenkin suositeltavaa, että näyte otetaan osastolla tai laboratorioissa. (PHSOTEY Patologia 2008.)

### 3.3 Virtsan irtosoluvalmisteen valmistus

Virtsan irtosolututkimuksessa yön yli fiksoituneesta solususpensiosta valmistetaan patologian laboratoriossa sytosentrifugoinnin avulla sytosentrifugivalmiste. Sytosentrifugointi on menetelmä, jossa sytosentrifugilla tuotetaan erilaisten ruumiinnesteiden soluaineksesta yksisolukerros objektilasille. (Brunzel 2004, 178.) Sytosentrifugointia varten pieni määrä fiksoitua solususpensiota kaadetaan kartiomaisiin kyvetteihin ja sytosentrifugoinnin aikana näytteessä olevat solut kertyvät yhdeksi kerrokseksi kyvetin yhteydessä olevaan objektilasiin. Sytosentrifugoinnin jälkeen kyvetteihin jäänyt ylimääräinen neste kaadetaan pois ja kyvetit asetetaan ylösalaisin kuivumaan. (King Strausinger & Schaub Di Lorenzo 2001, 154; Bancroft & Gamble 2003, 629.) Irtosoluvalmisteen valmistustekniikassa on hyvin tärkeää saada solut runsaina ja riittävän hyväkuntoisina objektilasille (Koivuniemi 1994, 296).

Päijät-Hämeen sosiaali- ja terveisyhtymän patologian laboratorion työohjeen mukaan sytosentrifugointia varten tarvitaan SuperFrost Plus-objektilasi, tislattua vedellä kostutettu rajaaja ja kyveti, jotka kiinnitetään pidikkeeseen. Fiksoitua solususpensiota sekoitetaan ensin kääntelemällä näytepurkkia muutaman kerran ylösalaisin, jotta solut jakaantuvat tasaisesti solususpensioon. Solususpensiota lisätään kyvetiin 12 millilitran merkkiviivaan asti, mikäli näyte on kirkas ja niukkasoluinen. Jos näyte on samea ja runsassoluinen, jätetään kyveti vajaaksi ja se täytetään merkkiviivaan asti 50-prosenttisella etanolilla. (PHSOTEY Patologia 2011a.)

Täytetyt kyvetit asetetaan vastaparein sytosentrifugin roottoriin ja sentrifugoidaan 5 minuuttia nopeudella 1000 rpm. Välittömästi sentrifugoinnin jälkeen kyvetteihin jäänyt ylimääräinen neste kaadetaan pois ja kyvetit asetetaan hetkeksi kuivumaan. Kyveti ja pidike irrotetaan toisistaan koskematta objektilasille kertyneisiin soluihin. Objektilasille kertyneen solukerroksen paksuus tarkistetaan, ja rajaaja jätetään vielä paikalleen objektilasin päälle. Jos valmiste on paksu, poistetaan rajaaja ja ohennetaan sivelyvalmistetta toisen objektilasin avulla vetämällä. Tämän jälkeen objektilasit asetetaan näytetarjottimelle ja laitetaan +37 °C lämpökaappiin kuivumaan. Objektilaseille jätetyt rajaajat tulee poistaa vähintään kolmen tunnin kuluttua lämpökaappiin laiton jälkeen. Objektilaseja kuivatetaan näytetarjottimella +37 °C lämpökaapissa vielä yön yli. Kiireisten näytteiden kohdalla objektilaseja kuivatetaan +37 °C lämpökaapissa 60 minuuttia. (PHSOTEY Patologia 2011a.)



### 3.4 Virtsan irtosoluvalmisteen värjäys

Sytologinen sytosentrifugivalmiste värjätään yleisimmin Papanicolaou-menetelmällä, joka on 1940-luvulla syöpädiagnostiikkaan kehitetty värjäys. Etenkin solujen tumien rakenne tulee hyviin esiin tällä menetelmällä. Papanicolaou-menetelmä on polykromaattinen eli monen värin muodostama värjäys. Prosessi jakautuu kolmeen päävaiheeseen: tumavärjäys, ensimmäinen ja toinen sytoplasmavärjäys. Värjäys voidaan tehdä joko käsin tai värjäysautomaatilla. Inkubaatioaika vaihtelee näytteen ja käytössä olevien reagenssien mukaan, joten yleispäteviä värjäysaikoja ei voida esittää. (Aho 2000, 142.)

Papanicolaou-menetelmässä tumavärinä käytetään hematoksyliiniä, joista ihanteellisin on Harrisin hematoksyliini (Bancroft & Gamble 2003, 631). Hematoksyliinin tulee olla hapetetussa muodossa, sillä vain hapetettu hematoksyliini eli hemateiini voi toimia tumavärinä. Harrisin hematoksyliini on hapetettu kemiallisesti elohopeaoksidilla. Hemateiini sitoutuu tumaan peitta-aineen avulla. Peitta-aineena käytetään yleisimmin metallisuoloja, kuten alumiinin suoloja. (Aho 2000, 144.)

Sytoplasmaväreinä käytetään Orange G6:a (Orange-G-6-fosfovolframihappo) ja EA 50:ä (eosiiniatsuuri 50). Oranssi G6:n ja EA 50:n yhdistelmä antaa solujen sytoplasmaan hienoisen vihreän, sinisen ja pinkin värisävyjen vaihtelun. Orange G6 on hapan eli negatiivisesti varautunut väri, joka värjää keratiinin, eosinofiilisten granulosityttien jyvät ja levyepiteelin pintasolut oransseiksi. Sytoplasmaväri EA 50 sisältää kolmea eri väriainetta; Light green, Eosin Y (=yellowish) ja Bismarck brown. Näistä Light green ja Eosin Y ovat happamia väriaineita. Light green värjää metabolisesti aktiivisten solujen, levyepiteelin keskikerros- ja basaalisolujen, lieriösolujen ja histiosyyttien sytoplasmat sinivihreiksi. Eosiini värjää levyepiteelin pintasolujen sytoplasmat, nukleolit, erytrosyytit ja värekarvat kellanpunaisiksi. Bismarck brown on emäksinen väri, joka vaikuttaa siihen, värjäytyykö sytoplasma voimakkaammin Light greenillä vai Eosin Y:llä. Bismarck brownin tarpeellisuus värjäyksessä on kuitenkin vähäinen, joten sitä ei käytetä kaikissa Papanicolaou-sovelluksissa. (Aho 2000, 144–145; Bancroft & Gamble 2003, 631.) Useimmat laboratoriot käyttävät kaupallisia värejä ja tekevät oman optimaalisimman muunnelmansa alkuperäisestä värjäystekniikasta. Värjäyksen lopputuloksessa

sytoplasmaväriin pitäisi kuitenkin säilyttää läpikuultavuutensa ja tumen kromatiinin pitäisi olla helposti erotettavissa. (Bancroft & Gamble 2003, 631.)

Papanicolaou-värijäys aloitetaan rehydraatiolla eli palauttamalla vesi sytosentrifugivalmisteen soluihin. Rehydraation avulla valmisteeseen luodaan oikeat olosuhteet solujen tumien värjäämiseksi hematoksyliinillä. Tämä tapahtuu laskevassa etanolisarjassa, esimerkiksi ensin 95-prosenttisessä ja sitten 70-prosenttisessä etanolissa. Valmistee huuhdellaan tislatussa vedessä ja tumat värjätään hematoksyliinillä. Tumavärijäystä seuraa sinistys eli huuhtelu emäksisessä vedessä. Sinistyksen jälkeen suoritetaan differentiaatio eli erottelu laimeassa suolahapossa, jolloin ylimäärä tumaväriä poistuu. Tällaista värijäysmenetelmää kutsutaan regressiiviseksi. Suolahappokäsittelyn jälkeen valmistee huuhdellaan tislatussa vedessä ja valmisteen solut dehydroidaan sytoplasmavärijäyksiä varten. Dehydraation tarkoituksena on palauttaa etanoli valmisteen soluihin, jolloin luodaan oikeat olosuhteet solujen sytoplasman värjäämiseen. Dehydraatio tapahtuu nousevassa etanolisarjassa, esimerkiksi ensin 70-prosenttisessä ja sitten 95-prosenttisessä etanolissa. Kun dehydraatio on suoritettu, värjätään solujen sytoplasmat Orange G6:lla ja EA 50:lla. Kummankin sytoplasmaväriin jälkeen valmiste huuhdellaan vahvalla, esimerkiksi 95-prosenttisellä etanolilla. Etanolihuuhteluiden jälkeen valmistee käytetään vielä absoluuttisessa etanolissa ja kirkastetaan ksyleenillä. (Aho 2000, 144–145; Bancroft & Gamble 2003, 631.)

Päijät-Hämeen sosiaali- ja terveystieteiden patologian laboratoriossa virtsan irtosoluvalmistee värjätään Papanicolaou-menetelmällä. Tumaväriä käytetään Gill'n hematoksyliiniä. Gill'n hematoksyliinissä on peittä-aineena alumiini ja sytoplasmaväreinä käytetään Oranssi II:a ja EA 50:ä. Rehydraatiossa käytetään 96- ja 50-prosenttista etanolia ja dehydraatiossa 70- ja 96-prosenttista etanolia. Differentiaatio suoritetaan 0,25-prosenttisessä suolahapossa. Sytoplasmavärit huuhdellaan kahdesti 96-prosenttisellä etanolilla. (PHSOTEY Patologia 2011b.)

### **3.5 Virtsan irtosolututkimuksen spesifisyys ja sensitiivisyys**

Normaali tulos virtsan irtosolututkimuksessa ei välttämättä poista jatkotutkimusten tarvetta, sillä virtsan irtosolututkimuksella tunnistetaan uusista virtsarakkosyöivistä vain

noin kolmasosa (Raitanen 2010). Virtsan irtosolututkimuksen herkkyys vaikuttavat kasvaimen erilaistumisaste ja kasvussyvyys; huonoin herkkyys on hyvin erilaistuneilla ja pinnallisilla kasvaimilla, joita suurin osa virtsarakkosyöpäkasvaimista on. Hyvin erilaistuneissa kasvaimissa solujen välinen koheesio on suuri, minkä vuoksi kasvaimista erittyy soluja virtsaan vain vähän. (Raitanen ym. 2000, 573–577.) Villicanan ym. (2009, 265–274) mukaan virtsan irtosolututkimuksen herkkyys näiden kasvainten kohdalla vaihtelee 20–60 %:n välillä. Sen sijaan huonosti erilaistuneissa ja karsinoma in situ-kasvaimissa solujen välinen koheesio on heikompi; näiden kasvainten kohdalla virtsan irtosolututkimuksen herkkyys on 80 %. Virtsan irtosolututkimuksen spesifisyys on korkea ja väärin positiivisten tulosten todennäköisyys on matala. Vääriä positiivisia irtosolutulöydöksiä voivat aiheuttaa esimerkiksi virtsatieinfektiot ja muut rakon tulehdustilat sekä annettu sädehoito tai kemoterapia. (Raitanen ym. 2000, 573–577; Villicana ym. 2009, 265–274.)

## **4 VIRTSAN IRTOSOLUVALMISTEEN MIKROSKOOPPINEN TARKASTELU JA PAPANICOLAOU-LUOKITUS**

### **4.1 Sytologisen diagnostiikan perusteita**

Sytologia tarkoittaa elimistön solujen, niiden rakenteiden ja toiminnan tarkastelua mikroskooppisesti (Koivuniemi 1994, 1). Sytologian osa-alueella erilaisista kehon nesteistä ja eritteistä valmistetaan irtosoluvalmisteita objektilaseille, jotka tutkitaan valomikroskoopilla mahdollisten malignien solumuutosten havaitsemiseksi (Keebler & Somrak 1993, 396; Suomen Bioanalyttikoliitto ry 2012). Yleisimpiä käsiteltäviä näytemateriaaleja ovat virtsa, yskös sekä kohdunkaulan irtosolunäytteet. Muita näytemateriaaleja ovat erilaiset punktionäytteet, ohutneulabiopsiat, huuhtelunäytteet, harjairtosolunäytteet, kaapimisnäytteet sekä tähystysten eli endoskopioiden yhteydessä otetut imunäytteet. Sytologiset irtosoluvalmisteet valmistetaan kullekin näytetyypille soveltuvalla menetelmällä, joita ovat sively-, suodatus- ja sytosentrifugimenetelmät. (Koivuniemi 1994, 10.) Bioanalyttikko osallistuu sytologisten irtosoluvalmisteiden valmistukseen ja esitarkastukseen, minkä jälkeen patologi tarkastaa irtosoluvalmisteet ja antaa niistä lopullisen vastauksen (Suomen Bioanalyttikoliitto ry 2012). Virtsan mikroskooppinen tarkastelu tapahtuu valomikroskoopilla käyttäen 10- ja 40-kertaisia objektiiveja (Kouri 1998, 107). Sytologinen näytevastaus sisältää Papanicolaou-luokituksen ja mahdollisen sanallisen lausunnon. Sanallista lausuntoa käytetään etenkin, jos näytteen soluissa ilmenee normaalista poikkeavia muutoksia. Lisäksi sytologiseen näytevastaukseen voidaan liittää maininta näytteen edustavuudesta eli tutkittavien solujen määrän riittävydestä. (Timonen 1998, 86–87.)

Päijät-Hämeen sosiaali- ja terveysyhtymän patologian laboratoriossa bioanalyttikko tai laboratoriohoitaja esitarkastaa irtosoluvalmisteet ja antaa niistä oman arvion sekä Papanicolaou-luokituksen. Esitarkastuksen jälkeen valmisteet viedään patologille lopullista tarkastusta varten. (Repo 2011.) Virtsan irtosoluvalmisteesta vastataan Papanicolaou-luokka, sytologinen diagnoosi ja tarvittaessa lausunto (PHSOTEY Patologia 2008) (liite 2).

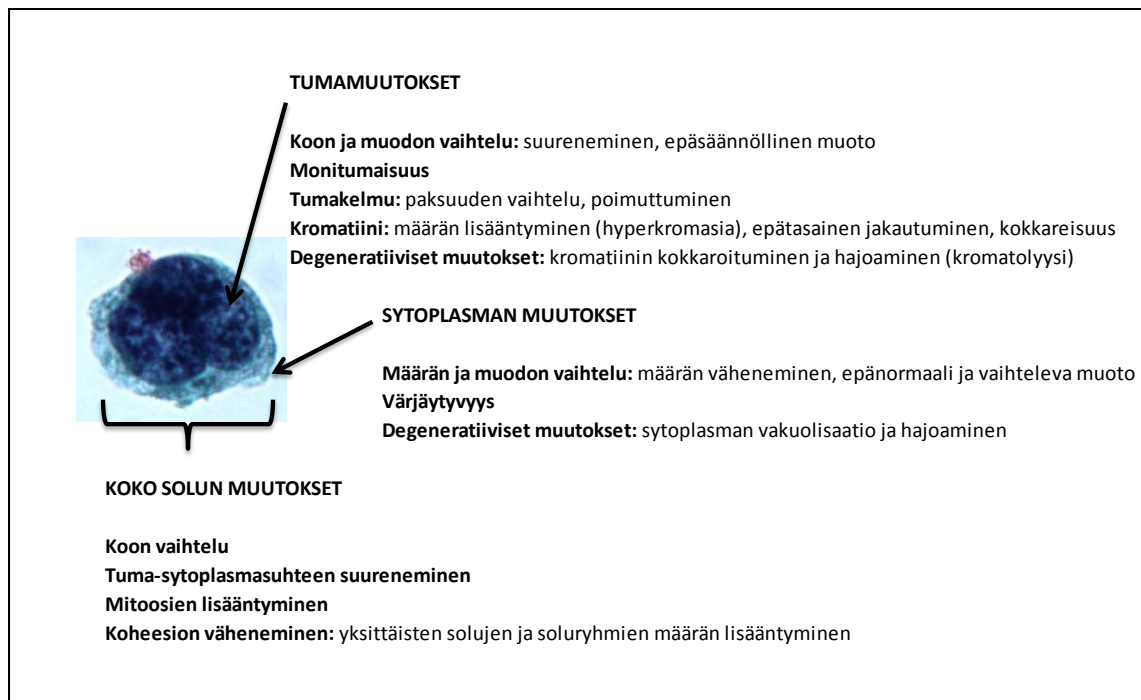
Sytologisten irtosoluvalmisteiden mikroskooppisessa tarkastelussa kiinnitetään huomiota solujen mahdollisiin tuman, sytoplasman ja koko solun normaalista

poikkeaviin muutoksiin (kuva 2). Tumassa havaittavia muutoksia eli tuma-atypiaa voivat olla muutokset tuman koossa ja muodossa sekä monitumaisuus. Tumakoon suureneminen ja tuman muodon epäsäännöllisyys ovat yleisiä atyyppisiä muutoksia. Tumaa ympäröivä tumakelmu voi olla paksuudeltaan vaihteleva ja muodoltaan poimuttunut. Tuman kromatiini voi lisääntyä (hyperkromasia) ja se voi olla jakaantunut tumaan epätasaisesti ja olla kokkareista. Kromatiinin kokkaroituminen ja hajoaminen (kromatolyysi) voivat olla merkki degeneratiivisista tumamuutoksista. (Koivuniemi 1994, 8.)

Solun sytoplasman muutoksia voivat olla muutokset sen määrässä ja muodossa. Atyyppisissä soluissa sytoplasman määrä yleensä vähenee, ja sytoplasman eli samalla koko solun muoto on vaihteleva ja epänormaali, esimerkiksi sukkulamainen. Sytoplasman värjäytyvyys voi olla normaalista poikkeavaa viitaten solun kypsymishäiriöön tai huonoon erilaistumisasteeseen. Sytoplasman degeneratiivisia muutoksia, kuten vakuolisaatiota tai sytoplasman täydellistä hajoamista (sytolyyysi) voi olla havaittavissa. Sytolyyysin seurauksena vain solujen tumat jäävät jäljelle. (Koivuniemi 1994, 8.)

Koko solun muutoksina voidaan havaita solujen koon vaihtelua sekä tuma-sytoplasmasuhteen suurenemista, joka johtuu tuman koon kasvusta. Tuma-sytoplasmasuhde voi myös vaihdella solujen kesken johtuen solujen kypsymishäiriöistä. Soluissa voi olla nähtävissä tavallista runsaampaa tai epänormaalia solujakaantumista eli mitooseja. Solujen välinen koheesio eli vetovoima voi olla vähentynyt, mikä aiheuttaa lisääntynyttä yksittäisten solujen ja soluryhmien esiintymistä. (Koivuniemi 1994, 8–9.)

Sytologinen diagnoosi tehdään irtosoluvalmisteen mikroskooppisessa tarkastelussa muodostuneen kokonaiskuvan perusteella. Yksittäisiä atyyppisiä solumuutoksia voi esiintyä myös normaaleissa irtosoluvalmisteissa. Malignien solumuutosten kannalta tärkeimpiä muutoksia ovat tuman ja kromatiinin muutokset. Sytologisista irtosoluvalmisteista vastattavat sytologiset diagnoosit jaetaan soluissa havaittavien muutosten voimakkuuden perusteella viiteen Papanicolaou-luokkaan: I, II, III, IV ja V (Koivuniemi 1994, 9, 12, 79.)

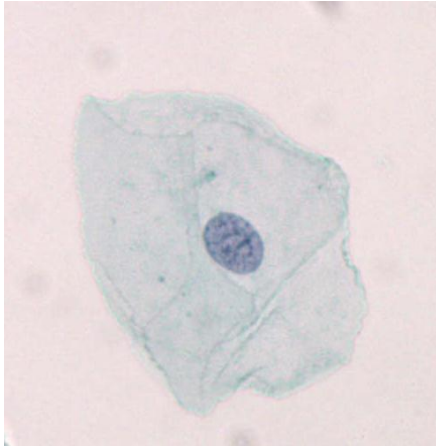


KUVA 2. Soluissa havaittavia atyyppisiä muutoksia (Kuva: Sirke Hatula & Ninni Hyvärinen 2011)

## 4.2 Papanicolaou-luokka I

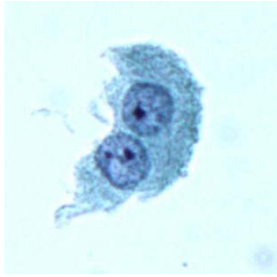
Puhtaasti lasketun virtsanäytteen solumateriaali on peräisin munuaisista ja virtsateistä, mutta vain virtsateiden alue on virtsan irtosolunäytteen sytologisen diagnostiikan kannalta merkitsevää aluetta. (Koivuniemi 1994, 271.) Normaalitilanteessa puhtaasti lasketun virtsanäytteen solujen määrä on vähäinen, mutta näyte voi kuitenkin sisältää jonkin verran erilaisia soluja. Näytteen mahdollisesti sisältämät levyepiteelisolut voivat olla peräisin virtsarakon trigonumin alueelta ja virtsaputken loppuosasta, mutta yleisimmin levyepiteeli on kuitenkin kontaminaatiota ulkoisista sukupuolielimistä näytteenoton yhteydessä erityisesti naisilla. (Gray & McKee 2003, 18; Atkinson 2004, 234–235.) Virtsanäytteen sisältämät levyepiteelisolut ovat useimmiten peräisin levyepiteelin pinta- ja keskikerroksesta (Atkinson 2004, 235). Levyepiteelin pintasolut ovat kooltaan suuria ja muodoltaan monikulmaisia soluja, joissa on pieni, tiivis tuma. Niiden sytoplasma on melko läpikuultava ja värjäytyy eosinofiilisesti eli punertavan sävyisesti. Keskikerroksen levyepiteelisolut ovat myös muodoltaan monikulmaisia, mutta ovat kooltaan pintasoluja pienempiä. Solujen sytoplasma värjäytyy syanofiilisesti eli sinertävästi ja on usein tiiviimpää kuin pintasolujen sytoplasma. Solujen tumat ovat

kooltaan vähintään kaksinkertaisia ja rakenteeltaan löyhempiä verrattuna pintasolujen tumiin (kuva 3). (Keebler & Somrak 1993, 52.)



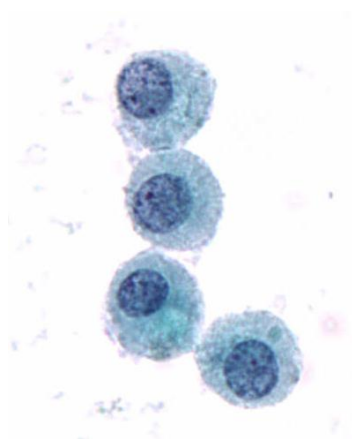
KUVA 3. Keskikerroksen levyepiteelisolu (Kuva: Sirke Hatula & Ninni Hyvärinen 2011)

Papanicolaou-luokkaan I luokiteltava virtsanäyte sisältää vain normaaleja solulöydöksiä; sytologisen diagnoosin mukaan näytteessä ei esiinny soluatypiaa. Näytteessä mahdollisesti esiintyvät uroteelisolut ovat siis morfologialtaan normaaleja (kuva 4; kuva 5; kuva 6). (Koivuniemi 1994, 12, 271.) Virtsanäytteessä voi esiintyä joitakin uroteelin pintasoluja eli niin sanottuja sateenvarjosoluja. Ne ovat kooltaan suuria ja usein monitumaisia. Solujen läpimitta voi vaihdella 30 ja 100 mikrometrin välillä, ja ne ovat muodoltaan monikulmaisia. Solut sisältävät runsaasti sytoplasmaa, joka on kirkasta ja värjäytyy sinertävästi. Tumien lukumäärä voi vaihdella kahdesta jopa kymmeneen. Tumien muoto on pyöreä tai ovaali, ja tumien koko voi vaihdella runsaasti. Tumakalvot ovat sileät ja tuman kromatiinirakenne on hienojakoista. (Bancroft & Gamble 2002, 655; Atkinson 2004, 234; McKee 2005, 215.)



KUVA 4. Normaali kaksitumainen uroteelin pintasolu (Kuva: Sirke Hatula & Ninni Hyvärinen 2011)

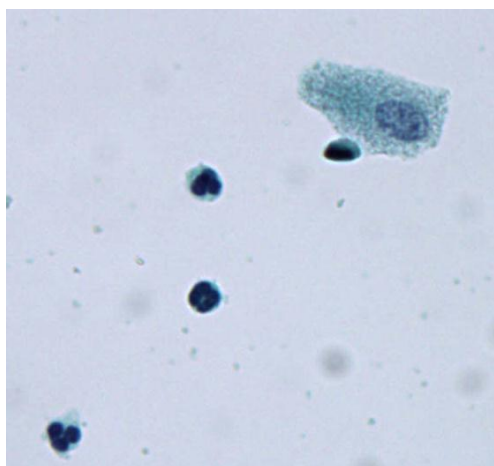
Papanicolaou-luokan I näytteessä voi esiintyä joitakin syvemmän kerroksen uroteelisoluja, jotka ovat kooltaan pienempiä ja muodoltaan pyöreämpiä kuin pintakerroksen uroteelisolut. Solujen sytoplasma on tiiviimpää, yhtenäistä, ja värjäytyy sinisen ja vihreän sävyillä. Solujen ja tumien reunat ovat tarkkarajaiset. Solujen sisältämä yksi tuma on pyöreän tai soikean muotoinen ja täyttää solusta kolmanneksen tai jopa puolet. Tuman kromatiini on sileän hienojakoista ja tumakalvon reunat ovat sileät. (Bancroft & Gamble 2002, 655; Gray & McKee 2003, 475; Atkinson 2004, 234.) Uroteelisolujen degeneraatio eli hajoaminen näytteessä aiheuttaa sytoplasman vakuolisaatiota sekä tuman rypistymistä ja hyperkromatisoitumista (Gray & McKee 2003, 475). Uroteelisolujen määrä näytteessä voi lisääntyä erilaisissa virtsateiden tulehdustiloissa tai näytteenottotekniikasta johtuen esimerkiksi katetrin avulla otetuissa virtsanäytteissä (Keebler & Somrak 1993, 185).



KUVA 5. Neljä uroteelin syvemmän kerroksen solua (Kuva: Sirke Hatula & Ninni Hyvärinen 2011)



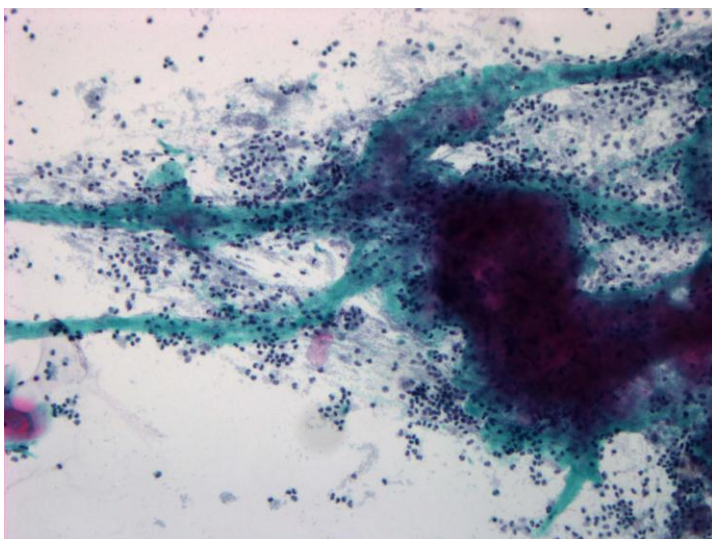
Puhtaasti laskettu virtsanäyte voi normaalitilanteessa sisältää satunnaisia valko- ja punasoluja (kuva 6) (Bancroft & Gamble 2003, 655). Virtsateiden tulehdustiloissa niiden määrä virtsassa voi lisääntyä. Etenkin neutrofiilien runsas ilmaantuminen virtsaan on yleistä bakteerin aiheuttamassa alempien virtsateiden märkäisessä tulehduksessa. Näytteessä mahdollisesti esiintyvät tautia aiheuttavat pieneliöt, kuten sienet ja bakteerit, eivät sellaisenaan nosta Papanicolaou-luokkaa. Punasolujen lisääntynyt määrä virtsassa ilman tulehdusta voi viitata maligniin tilaan ja vaatii lisäselvittelyä. (Koivuniemi 1994, 12, 273.)



KUVA 6. Ylimpänä normaali uroteelin pintasolu ja alla neljä neutrofiiliä (Kuva: Sirke Hatula & Ninni Hyvärinen 2011)

Munuaistiehyitä eli tubuluksia verhoavia tubulussoluja ei normaalitilanteessa erity virtsaan kuin korkeintaan yksittäisinä. Tubulussolut säilyvät näytteessä huonosti, minkä vuoksi virtsan irtosolunäytteiden diagnostinen luotettavuus munuaissairauksissa on vähäinen. (Koivuniemi 1994, 271.) Munuaisten tubulussolut ovat uroteelisoluihin verrattuna kooltaan paljon pienempiä. Niille on tyypillistä rakeinen sytoplasma ja pieni, pyknoottinen tuma. (McKee 2005, 215.)

Miehen virtsanäytteessä voi esiintyä siemenrakkulan soluja, siittiöitä ja eturauhasen lieriöepiteeli- ja rauhassoluja. Sen sijaan naisen kohdunkaulan lieriösolut ja kohdun runko- osan rauhasepiteelisolut eivät juuri koskaan joudu virtsanäytteeseen. Jos potilaalla on suolirakko, virtsaan voi erittyä suolirakon lieriöepiteelisoluja (kuva 7). (Koivuniemi 1994, 273.)



KUVA 7. Suolirakosta virtsaan erittynyttä lieriöepiteeliä ja valkosoluja (Kuva: Sirke Hatula & Ninni Hyvärinen 2011)

#### 4.3 Papanicolaou-luokka II

Sytologisessa diagnoosissa Papanicolaou-luokka II tarkoittaa benigniä soluatypiaa. Näytteessä havaittavat atyyppiset solumuutokset ovat tällöin reaktiivisia eli jostakin ärsykkeestä johtuvia, joita voivat aiheuttaa esimerkiksi erilaiset virtsateiden tulehdukset. Virtsateiden tulehduksia ovat muun muassa uretriitti eli virtsaputkentulehdus, kystiitti eli virtsaputkeen ja -rakkoon rajoittuva tulehdus sekä pyelonefriitti eli virtsanjohtimiin, munuaisaltaiisiin tai munuaisiin ylettyvä tulehdus. (Koivuniemi 1994, 281; Suomalainen Lääkäriseura Duodecim 2011.) Virtsateiden bakteeritulehduksissa uroteelista irtoaa soluja virtsaan enemmän kuin normaalisti, ja solut voivat irrota virtsaan solurykelminä (Koivuniemi 1994, 273). Lisäksi virtsassa voi esiintyä runsaasti valkosoluja, erityisesti neutrofiilejä ja histiosyyttejä (McKee 2005, 215).

Tulehdukset aiheuttavat uroteelisoluissa yleensä benigniä reaktiivista atypiaa, mikä ilmenee soluissa vaihtelevan asteisina solu- ja tumamuutoksina (kuva 8). Sytoplasma voi olla vakuolisoitunutta ja sen määrä voi vaihdella. Tuma-atypian voimakkuus voi vaihdella lievästä melko voimakkaaseen. Tuma-atypia voidaan havaita tumakoon suurenemisena tai tuman kutistumisena ja mahdollisena monitumaisuutena. Tumat voivat olla hyperkromaattisia, ja kromatiini voi olla hajonnutta ja kokkareista. Nukleoli voi olla korostunut. (Koivuniemi 1994, 8, 12, 273, 281; McKee 2005, 215.) Lisäksi

virtsatien tulehdustilojen yhteydessä uroteelisoluihin voi tapahtua metaplastista muuntumista levyepiteeliksi (Atkinson 2004, 234).

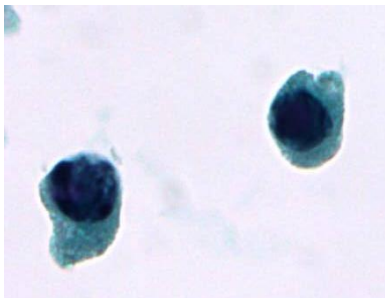
Herpes- ja papilloomavirusten aiheuttamat solumuutokset voidaan virtsanäytteessä havaita lähinnä virtsaputken loppuosasta peräisin olevissa levyepiteelisoluihin, mutta muutoksia tavataan kuitenkin hyvin harvoin. Uroteelisolujen kohdalla solumuutosten tunnistaminen virusten aiheuttamiksi on epävarmaa. Herpesinfektiossa voidaan tavata uroteelisolujen muuttumista suuriksi ja monitumaisiksi soluiksi, niin sanotuiksi lakkamarjasoluiksi. Tumat voivat sisältää punertavia inkluusiokappaleita. Papilloomavirukset aiheuttavat levyepiteelisoluihin koilosytoosia ja tumamuutoksia, mutta ei ole varmuutta, aiheuttavatko virukset samoja muutoksia myös uroteelisoluihin. (Koivuniemi 1994, 277, 281.)

Uroteelin jatkuva mekaaninen ärsytys esimerkiksi kroonistuneiden virtsatiekivien, kestoputken tai toistuvien virtsatien tutkimustoimenpiteiden johdosta voi myös aiheuttaa uroteelisolujen reaktiivista atypiaa. Ärsytysatypia ilmenee soluissa sukkulamaisena solumuotona ja sytoplasman tiivistymisenä. Uroteelisolut voivat myös esiintyä ryhmissä. Tumien koko voi olla suurentunut, niiden muoto voi olla kulmikas ja niissä voi esiintyä hyperkromasiaa. Myös monitumaisuutta voi esiintyä. (Keebler & Somrak 1993, 187; Koivuniemi 1994, 277, 281.)

Lantion alueelle annettu sädehoito ja virtsarakon syövän hoidossa käytetyt kemoterapiset rakkohuuhtelut aiheuttavat uroteelisolujen koon suurenemista, ja erityisesti tumien valtaisa laajenemista. Sytoplasma voi olla vakuolisoitunutta ja voi värjäytyä normaalia tummemmin ja epätasaisemmin. Sädehoidon myöhäisvaiheessa tumissa voidaan havaita kutistumista ja hajoamista. Kemoterapian seurauksena tumat voivat olla tasaisen hyperkromaattisia, tai tumien kromatiini voi esiintyä karkeana rakenteena. (Keebler & Somrak 1993, 187; Koivuniemi 1994, 277.)

Virtsatiekivet, virusinfektiot, kemoterapia ja virtsatieihin kohdistuvat toimenpiteet voivat aiheuttaa uroteelisoluihin niin voimakasta reaktiivista atypiaa, että soluja on vaikea erottaa low grade -asteisen uroteelikarsinooman soluista (Bhatia ym. 2006, 28). Tällöin irtosoluvalmiste saatetaan virheellisesti luokitella vähintään Papanicolaou-luokkaan III, mikä lisää virheellisiä kasvaimiin viittaavia tulkintoja. Toisaalta näytteen luokittelu Papanicolaou-luokkaan II ei koskaan varmasti sulje pois kasvaimen mahdollisuutta,

sillä hyvin erilaistuneiden malignien kasvainten solut voivat muistuttaa läheisesti benignejä atyyppisia soluja. (Koivuniemi 1994, 13.)



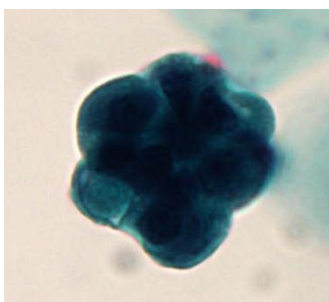
KUVA 8. Kaksi reaktiivisesti atyyppista uroteelisolua Papanicolaou-luokkaan II luokiteltavassa näytteessä (Kuva: Sirke Hatula & Ninni Hyvärinen 2011)

#### 4.4 Papanicolaou-luokat III-V

Papanicolaou-luokkiin III-IV luokiteltavissa virtsanäytteissä on havaittavissa solumuutoksia, jotka viittaavat virtsateiden maligneihin kasvaimiin. Papanicolaou-luokan III näytteessä malignin kasvaimen todennäköisyys vaihtelee 50–85 %:n välillä, ja sytologisessa diagnoosissa luokka III tarkoittaa lievää maligniteettiepäilyä. Näytteen uroteelisoluissa havaittavat lievät tai kohtalaiset malignisuuteen viittaavat solumuutokset näkyvät solujen koon, muodon, värjäytyvyyden ja tumasytoplasmasuhteen vaihteluna sekä tumien atypiana. Näytteen sijoittaminen Papanicolaou-luokkaan III voi johtua eri tekijöistä. Näyte voidaan usein varmuuden vuoksi sijoittaa Papanicolaou-luokkaan III, mikäli malignisuuteen viittaavien uroteelisolujen määrä näytteessä on hyvin vähäinen, tai mikäli edellisessä kappaleessa mainittujen tekijöiden aiheuttama reaktiivinen atypia uroteelisoluissa on hyvin voimakasta. (Koivuniemi 1994, 13–14.)

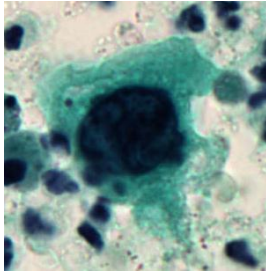
Papanicolaou-luokkaan III luokitellaan papillaarisia uroteelisoluryhmiä sisältävät näytteet (kuva 9). Papillaariset, kolmiulotteiset soluryhmät voivat viitata benigniin virtsateiden papilloomaan, mutta ne voivat olla myös merkki malignista, papillaarisesti kasvavasta eli ulokkeita muodostavasta kasvaimesta. (Koivuniemi 1994, 283; Repo 2011.) Virtsateiden papilloomassa uroteelista voi hilseillä soluja virtsaan normaalia enemmän, ja virtsanäytteeseen voi irrota kokonaisia papillaarisia uroteelin kappaleita.

Papillooman uroteelisoluissa ei aina ole nähtävissä tuma-atypiaa tai lisääntyneitä mitooseja, joten niiden erottaminen normaaleista soluista saattaa olla vaikeaa. (Koivuniemi 1994, 283.) Pienet tai pitkän sukkulamaiset uroteelisolut virtsanäytteessä voivat olla merkki virtsarakon papilloomasta (Takahashi 2000, 346). Papillaarisiin soluryhmiin tulee kiinnittää erityistä huomiota myös siksi, että suurin osa low-grade-luokan uroteelikarsinoomista on kasvutavaltaan papillaarisia. Low-grade-luokan uroteelikarsinoomassa malignien uroteelisolujen muutokset voi olla vaikea erottaa benigneistä reaktiivisista muutoksista. (Atkinson 2004, 236.)



KUVA 9. Papillaarinen uroteelisoluryhmä Papanicolaou-luokkaan III luokiteltavassa näytteessä (Kuva: Sirke Hatula & Ninni Hyvärinen 2011)

Papanicolaou-luokkaan IV luokiteltavassa virtsanäytteessä on havaittavissa vahvasti malignin kasvaimen suhteen epäilyttäviä uroteelisoluja. Malignin kasvaimen todennäköisyys on 95–98 %, ja sytologisessa diagnoosissa luokka IV tarkoittaaakin vahvaa maligniteettiepäilyä. (Koivuniemi 1994, 11–13.) Epänormaalien solujen runsas esiintyminen ja muiden solujen vähäinen osuus näytteessä viittaa hyvin todennäköisesti maligniin löydökseen (Timonen 1998, 84). Papanicolaou-luokkaan IV luokiteltavassa näytteessä voi olla kyse karsinoma in situ eli pinnallisesta, epiteeliin rajoittuneesta karsinoomasta. Uroteelisolut ovat tällöin kooltaan ja muodoltaan vaihtelevia. Solujen tumat ovat suuria ja hyperkromaattisia, ja niiden kromatiini voi olla kokkareista (kuva 10). Morfologialtaan epänormaalit uroteelisolut voivat esiintyä yhtä aikaa sekä pienissä ryhmissä että irrallisina soluina. (Koivuniemi 1994, 285–289; Repo 2011.)



KUVA 10. Atyypinen uroteelisolu Papanicolaou-luokkaan IV luokiteltavassa näytteessä (Kuva: Sirke Hatula & Ninni Hyvärinen 2011)

Näytteen luokittelu Papanicolaou-luokkaan V tarkoittaa sytologisessa diagnoosissa lähes 100 %:n varmuudella malignia kasvainlöydöstä. Luokkaan V luokiteltavassa virtsanäytteessä uroteelisolut ovat kooltaan suuria ja muodoltaan epätyypillisiä, esimerkiksi monikulmaisia tai sukkulamaisia. Solujen sytoplasma on väriltään normaalia tummempaa ja tuma-sytoplasmasuhde on suurentunut. Tumat ovat voimakkaan hyperkromaattisia, ja niiden kromatiini on hyvin karkeaa ja voi olla tiivistynyt tuman reunoille. Myös tumien nukleolien suureneminen on tyypillistä malignille solulöydökselle. (Koivuniemi 1994, 14, 285.)

Virtsan irtosoluvalmisteiden solulöydökset vaihtelevat uroteelikarsinooman erilaistumisasteesta riippuen. Hyvin erilaistuneissa uroteelikarsinoomissa yksittäisten syöpäsolujen välinen koheesio on hyvä, joten virtsanäytteeseen ei välttämättä erity paljon syöpäsoluja. Papillaarisesti kasvavista karsinoomista voi silloin tällöin irrota virtsaan papillarisia epiteelinkappaleita. Kohtalaisesti erilaistuneissa uroteelikarsinoomissa epiteelin koheesio ei ole kovin hyvä, vaan virtsaan irtoaa yhtenäisiä atyyppisia soluryhmiä. Huonosti erilaistuneissa karsinoomissa uroteelisolut esiintyvät virtsanäytteessä pääosin erillisinä soluina. Näytteen tausta on lisäksi usein tulehdussolujen, nekroottisten uroteelisolujen ja hajonneiden punasolujen peittämä. (Koivuniemi 1994, 285.)

## 5 VAKUUMIPUTKI

### 5.1 Vakuumiputki virtsan tutkimuksissa

Virtsanäytteiden keräykseen, säilytykseen ja kuljetukseen on saatavilla erilaisia eri yritysten valmistamia tuotteita. Näitä ovat erilaiset virtsankeräysastiat, virtsanäyteputket ja näytteen siirtoon tarkoitetut adapterit. Virtsanäyteputkia käytetään virtsanäytteen keräyksessä, kuljetuksessa ja analysoinnissa. Virtsanäyteputket voivat olla säilöntäaineellisia tai säilöntäaineettomia. Säilöntäainetta sisältävät näyteputket mahdollistavat näytteen pidemmän säilytyksen kuin säilöntäainetta sisältämättömät, sillä säilöntäaine hidastaa näytteessä tapahtuvia metabolisia muutoksia, mikrobien kasvua sekä solujen hajoamista. Säilöntäaineettomiin putkiin otettu näyte tulee toimittaa välittömästi näytteenoton jälkeen laboratorioon analysoitavaksi. Vaihtoehtoisesti säilöntäaineettomaan putkeen otettua näytettä voidaan säilyttää jonkin aikaa jääkaapissa. Näyteputkia on saatavilla erikokoisina ja eri tarkoitukseen sopivina, kuten virtsan mikrobiologisiin ja kemiallisiin tutkimuksiin sekä virtsan sakan mikroskooppisiin tutkimuksiin. Virtsanäytteen siirtoon voidaan käyttää siihen tarkoitettua adapteria, joka koostuu neulasta ja sitä ympäröivästä muovisuojuksesta. (Greiner Bio-One 2007; Becton, Dickinson and Company 2011.)

Virtsanäyteputket ovat useimmiten vakuumiputkia. Vakuumiputki on näyteputki, joka sisältää tarkkaan mitoitettun alipaineen eli vakuumin. Vakuumin ansiosta näyteputkeen saadaan tietty tilavuus näytettä. Vakuumiputken käyttö auttaa käsittelemään näytettä turvallisemmin, kun näytemateriaali kulkeutuu putkeen suljetussa systeemissä. (Tuokko ym. 2008, 46.) Tässä opinnäytetyössä käytetään virtsanäytteiden käsittelyyn tarkoitettuja, säilöntäaineettomia 11 millilitran BD Vacutainer® -vakuumiputkia. Näytepurkeissa tuotujen virtsanäytteiden siirto vakuumiputkeen tapahtuu adapterin avulla (kuva 11).



KUVA 11. Adapteri ja vakuumiputki (Kuva: Sirke Hatula & Ninni Hyvärinen 2011)

## 5.2 Aikaisemmat tutkimukset

Aiempiä tutkimuksia vakuumiputken soveltuvuudesta virtsan irtosolututkimukseen ei ole tehty. Vakuumiputkiin liittyviä tutkimuksia on tehty muun muassa virtsan solujen ajallisesta säilyvyydestä vakuumiputkissa sekä vakuumiputkien soveltuvuudesta virtsan mikrobiologisiin tutkimuksiin. Tutkimuksissa on vertailtu joko eri säilöntäaineiden soveltuvuutta kliinisiin tutkimuksiin, tai on verrattu säilöntäaineellisia vakuumiputkia säilöntäaineettomiin vakuumiputkiin.

Aiemmista tutkimuksista esimerkkinä Kourin, Malminiemen, Vuotar in ja Pelkosen tutkimuksessa (Virtsanäytteiden säilyvyys liuskalaskentaa ja partikkelilaskentaa varten – kaupallisten näyteputkien evaluaatio, 2007) arvioitiin C&S Plus -muoviputkia (BD Preanalytical Solutions) ja Vacuette Stabilur- ja boorihappoputkia (Greiner BioOne) virtsan kemiallisen seulonnan ja partikkelilaskennan tulosten säilyvyyden suhteen. Vertailtavat vakuumiputket sisälsivät eri säilöntäainetta. Virtsanäytteiden säilyvyyttä arvioitiin kemiallisen seulonnan ja partikkelilaskennan avulla tietyin väliajoin 72 tuntiin asti näytteen saamisesta. Tulokseksi saatiin, että huoneenlämmössä C&S Plus -muoviputkessa säilytetty näyte soveltuu kemialliseen seulontaan näytteen antopäivänä sekä automaattiseen partikkelilaskentaan ja todennäköisesti mikroskopiaan yhden vuorokauden ajan. Vacuette Stabilur -putki soveltuu kemialliseen seulontaan näytteen antopäivänä, mutta sitä ei suositella partikkelilaskentaan säilöntäaineen aiheuttamien virheiden vuoksi.



## 6 OPINNÄYTETYÖN TAVOITE JA TARKOITUS

Opinnäytetyön tavoitteena on tuottaa yhteistyökumppanille eli Päijät-Hämeen sosiaali- ja terveystieteiden patologian laboratorion henkilökunnalle tietoa vakuumputken soveltuvuudesta virtsan irtosolututkimukseen käytännön laboratoriotyössä. Opinnäytetyön tarkoitus on vertailla virtsan irtosoluvalmisteiden ominaisuuksia nykyisellä tavalla käsitellyistä ja vakuumputkeen imetyistä virtsanäytteistä. Vertailtavien valmisteiden välillä kiinnitetään huomiota virtsanäytteistä tehtyjen virtsan irtosoluvalmisteiden uroteelisolujen määrään, morfologiaan, ryhmittymiseen ja irtosoluvalmisteen Papanicolaou-luokkaan. Tutkimuksessa käytetään säilöntäaineettomia 11 millilitran BD Vacutainer® -vakuumputkia. Tutkimuksessa ei ole tarkoituksena tutkia solujen ajallista säilyvyyttä vakuumputkessa.

Opinnäytetyöprosessia ohjaavat kysymykset:

- Miten tavallisesta sentrifugiputkesta ja vakuumputkesta tehtyjen irtosoluvalmisteiden solumäärä eroaa toisistaan?
- Miten vakuumputki vaikuttaa uroteelisolujen morfologiaan virtsan irtosoluvalmisteessa?
- Miten vakuumputki vaikuttaa uroteelisolujen ryhmittymiseen virtsan irtosoluvalmisteessa?
- Miten vakuumputki vaikuttaa virtsan irtosoluvalmisteen Papanicolaou-luokkaan?

## 7 OPINNÄYTETYÖN MENETELMÄ JA TOTEUTUS

### 7.1 Tutkimusmenetelmä

Kvantitatiivisella eli määrällisellä tutkimuksella tutkitaan muuttujien eli mitattavien ominaisuuksien välisiä suhteita ja eroja. Kvantitatiivisen tutkimuksen tarkoitus on selittää, kartoittaa, vertailla, kuvata tai ennustaa asioita ja ilmiöitä. (Vilka 2007, 13, 19.) Kvantitatiivisen tutkimuksen tavoite on tuottaa yleistettäviä tutkimustuloksia (Hirsjärvi, Remes & Sajavaara 2002, 123). Kvantitatiivisessa tutkimuksessa kuvataan teoria ja määritetään muuttujat. Teorian muodostavat lait ja aiemmin todetut säännönmukaisuudet, jotka muodostavat tutkimuksen viitekehyksen. Teoreettisilla käsitteillä voidaan yhdistää jo olemassa oleva teoria tutkittaviin asioihin ja ilmiöihin. Muuttujalla tarkoitetaan tutkittavaa ilmiötä, asiaa tai ominaisuutta, josta määrällisessä tutkimuksessa halutaan tietoa. (Hirsjärvi ym. 2002, 130; Vilka 2007, 13–14, 18, 26.) Opinnäytetyön tutkimusmenetelmä on kvantitatiivinen eli määrällinen. Opinnäytetyössä käsitellään teoreettiset ja tutkimusmenetelmälliset lähtökohdat sekä kokeellinen suoritus ja siitä saadut tulokset ja tehdyt johtopäätökset.

Kvantitatiivisessa tutkimusmenetelmässä tutkittava aineisto ja sen ominaisuudet esitetään numeroiden avulla (Vilka 2007, 13–14, 18). Kvantitatiivisessa tutkimuksessa tulokset voidaan esittää taulukkomuodossa tai muussa tilastollisesti esitettävässä muodossa (Hirsjärvi ym. 2002, 129). Numeerisesti esitetty tutkimustieto tulkitaan ja selitetään myös sanallisessa muodossa (Vilka 2007, 14).

Kokeellisen tutkimuksen tavoite on mitata yhden muuttujan vaikutusta muihin muuttujiin. Kokeellisessa tutkimuksessa tietyistä populaatiosta valitaan tietyin menetelmin otos tai näyte, joka edustaa mahdollisimman hyvin kaikkia niitä havaintoyksiköitä, joista halutaan kerätä tietoa. (Kananen 2008, 34.) Tulosten luotettavuuden ja yleistettävyyden kannalta otoskoon tulee olla riittävän suuri ja edustava (Hirsjärvi ym. 2002, 129; Tuomi 2008, 95). Kuitenkin tutkimus voi olla luonteeltaan kvantitatiivinen myös otoskoon ollessa alle 30 (Tuomi 2008, 95). Opinnäytetyö on kokeellinen tutkimus, jossa populaatiota edustaa Päijät-Hämeen keskussairaalan polikliinisessä näytteenotossa annetut virtsan irtosolunäytteet. Opinnäytetyön otoksena on 30 virtsanäytettä, joista tehdään virtsan irtosoluvalmisteet

A- ja B-menetelmällä. Otoksen tulee sisältää sekä normaaleja että patologisia virtsan irtosolunäytteitä. A-näytteet käsitellään nykyisellä menetelmällä kaatamalla ne tavallisiin sentrifugiputkiin, ja B-näytteet imetään vakuumputkiin, eli muuttujana on erilainen näyteputki virtsan esikäsittelyssä. Tutkimusaineistona on yhteensä 60 virtsan irtosoluvalmisteesta tehdyt havainnot.

Näytteet analysoidaan systemaattisesti tietyissä olosuhteissa. Ennen analysointia tehdään tarkat koejärjestelyt ja vakioidaan muut muuttujat, jotta näytteessä saadaan aikaan muutos vain yhden muuttujan perusteella. (Hirsjärvi ym. 2002, 122.) Opinnäytetyön tutkimusstrategia on kokeellinen, jossa muuttujana toimii vakuumputki. Opinnäytetyön tarkoituksena on tutkia vakuumputken vaikutusta virtsan irtosoluvalmisteen ominaisuuksiin eli virtsan uroteelisolujen määrään, morfologiaan, ryhmittymiseen ja irtosoluvalmisteen Papanicolaou-luokkaan. Opinnäytetyössä vertaillaan keskenään tavallisesta sentrifugiputkesta valmistettua sekä rinnakkaista, vakuumputkesta valmistettua virtsan irtosoluvalmistetta. Vertailemalla samanaikaisesti kahta eri valmistusmenetelmää saadaan tuotua selkeästi esille niiden väliset erot. Kaikki näytteet käsitellään vakioidusti patologian laboratorion ohjekirjan mukaisesti. Vakioimalla eli kontrolloimalla muut muuttujat eli sentrifugointinopeudet ja -ajat, näytteiden fiksaatio sekä värjäysprosessi, varmistetaan vain yhden muuttujan eli vakuumputken vaikutus tuloksiin.

## 7.2 Tutkimusaineiston hankinta

Kokeellinen osuus suoritettiin kahtena eri ajankohtana; joulukuussa 2011 ja helmikuussa 2012 Päijät-Hämeen sosiaali- ja terveystyöryhmän patologian laboratoriossa. Opinnäytetyösuunnitelma hyväksyttiin joulukuussa 2011 ohjaavilla opettajilla, patologian laboratorion osastonhoitajalla sekä työelämän ohjaajalla. Tutkimusluvan myönsi Päijät-Hämeen sosiaali- ja terveydenhuollon kuntayhtymän lääketieteellisten palveluiden tulosryhmän ylihoitaja 13.12.2011.

Opinnäytetyön tutkimusmateriaalina käytettiin potilasnäytteitä, joista oli lähete virtsan irtosolututkimukseen. Näytemateriaali koostui noin kahden viikon aikana Päijät-Hämeen keskussairaalan poliklinisessa näytteenottopisteessä annetuista tuoreista virtsanäytteistä, joista oli lähete virtsan irtosolututkimukseen. Näytteenottoon

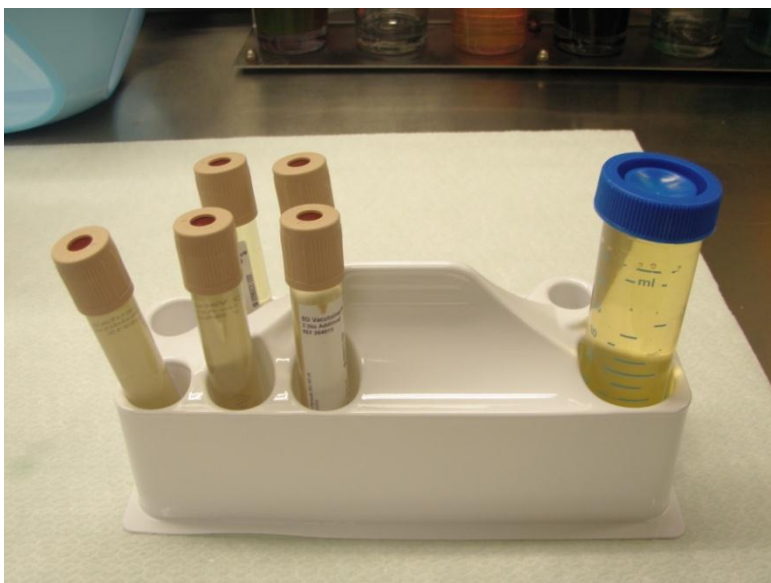
toimitettiin 12.12.–23.12.2011 väliseksi ajaksi patologian laboratorion henkilökunnan toimesta normaalia isompia, tilavuudeltaan 150 millilitran virtsanäytepurkkeja, joihin potilaita kehoitettiin virtsaamaan mahdollisimman paljon. Patologian laboratorion henkilökunta oli etukäteen ohjeistanut näytteenotossa työskentelevää henkilökuntaa toimimaan kyseisellä tavalla, ja ohjeistusta oli aiemmin käsitelty kliinisen kemian laboratorion osastokokouksessa. Riittäväksi näytemääräksi sovittiin 30 virtsanäytettä, joista osan tulisi sisältää patalogisia soluja.

Opinnäytetyön kokeellinen osio suoritettiin patologian laboratoriossa viikon 51 aikana vuonna 2011 sekä yhden päivän aikana helmikuussa 2012. Patologian laboratorion henkilökunta aloitti virtsanäytteiden keräämisen ja niiden käsittelyn valmiiksi värjäytyiksi sytosentrifugivalmisteiksi jo viikolla 50. Viikolla 50 virtsanäytteitä kertyi 13 kappaletta. Patologian laboratorion henkilökunta käsitteli kaikki viikolla 50 saapuneet virtsan irtosolunäytteet. Opinnäytetyön tekijät käsittelivät viikolla 51 saapuneet virtsanäytteet ja jatkoivat edellisellä viikolla saapuneiden, patologian laboratorion henkilökunnan jo alustavasti käsittelemien näytteiden loppukäsittelyä viikolla 51. Virtsan irtosolunäytteiden käsittely suoritettiin patologian laboratorion henkilökunnan ohjeistuksen ja virtsan irtosolututkimuksen työohjeen mukaisesti. Viikon 51 lopussa todettiin, että näytteitä ei kertynyt suunniteltua määrää sovittujen kahden viikon aikana. Näytteitä tuli kahden viikon aikana yhteensä 25 kappaletta. Jokainen virtsanäyte jaettiin kahtia A- ja B-näytteiksi, jotka käsiteltiin eri menetelmillä; A-näytteet käsiteltiin nykyisellä menetelmällä ja B-näytteet imettiin vakuumputkiin. Eri menetelmillä valmistettuja virtsan irtosoluvalmisteita vertailtiin mikroskooppisesti.

Patologian laboratorion henkilökunta valmisti viikon 51 jälkeen saapuneet loput viisi virtsan irtosolunäytettä valmiiksi ja laittoi lasit syrjään opinnäytetyön tekijöiden mikroskopointia varten. Patologian laboratorion henkilökunnan kanssa sovittiin, että opinnäytetyön tekijät tulevat mikroskopoimaan loput mikroskopoimatta jääneet näytteet, kun niistä on tehty irtosoluvalmisteet ja patologi on ehtinyt antamaan niistä lausunnon.

### 7.2.1 Virtsan irtosoluvalmisteiden valmistus

Virtsanäytteen saavuttua patologian laboratorioon sen kokonaismäärä mitattiin ja näytteeksi käytetty määrä kirjattiin näytepurkkiin. Tämän jälkeen näyte jaettiin kahtia tavalliseen 50 millilitran sentrifugiputkeen ja enintään viiteen vakuumputkeen. Työssä käytettiin lisäaineettomia 11 millilitran BD Vacutainer® -vakuumputkia, joihin näyte imettiin siihen tarkoitetun adapterin avulla. Näytemäärät vaihtelivat 20 ja 150 millilitran välillä, joista näytemateriaaliksi virtsaa otettiin kuitenkin korkeintaan 100 millilitraa. Näytekohtainen vakuumputkien lukumäärä arvioitiin näytteen määrän mukaan; 11 millilitran vakuumputkia täytettiin yhteensä niin monta, että jäljelle jäi saman verran näytettä tavalliseen 50 millilitran sentrifugiputkeen (kuva 12). Ennen virtsanäytteen siirtämistä putkiin se sekoitettiin kääntelemällä näytepurkkia muutaman kerran ylösalaisin. Vakuumputket täytettiin ensin, jotta jokainen niistä täyttyi kokonaan ja ettei viimeiseen vakuumputkeen jäänyt soluja hajottavaa alipainetta. Vakuumputkien täyttämisen jälkeen saman kaadettiin tavalliseen 50 millilitran sentrifugiputkeen. Ylimääräinen virtsa heitettiin pois. Jos näytettä oli alle 100 millilitraa, se käsiteltiin kuten edellä, mutta tällöin vakuumputkia täytettiin vähemmän ja myös sentrifugiputkeen tuli vähemmän näytettä. Putkiin erottelun jälkeen vakuumputkia ja tavallista sentrifugiputkea sentrifugoitiin Eppendorf Centrifuge 5804 -pöytäsentrifugilla 15 minuuttia nopeudella 1500 rpm.



KUVA 12. Virtsanäyte jaettuna viiteen vakuumputkeen ja tavalliseen 50 millilitran sentrifugiputkeen (Kuva: Sirke Hatula & Ninni Hyvärinen 2011)

Sentrifugoinnin jälkeen sekä vakuumiputkien että tavallisen 50 millilitran sentrifugiputken supernatantit kaadettiin pois ja putkien pohjalle konsentroitunut solusakka fiksoitiin PEG-etanolilla. Vakuumiputkien pohjalle sakkautuneet solut fiksoitiin aina yhteensä 10 millilitralla PEG-etanolia riippumatta vakuumiputkien määrästä ja kaikki saman potilaan vakuumiputkien fiksoidut solusakat yhdistettiin lopuksi samaan vakuumiputkeen. Vakuumiputkien pohjalle sakkautuneet solut irrotettiin sekoittamalla putkia muutama sekunti Vortex Genie 2 -soluravistelijalla, jonka jälkeen ensin 5 millilitraa PEG-etanolia lisättiin yhteen vakuumiputkista. PEG-etanolin ja solujen seos käytettiin kaikissa vakuumiputkissa kaatamalla sitä putkesta toiseen (kuva 13). Jokainen vakuumiputki sekoitettiin soluravistelijalla seoksen lisäämisen jälkeen, jotta kaikki putken pohjalla ja seinämällä olevat solut saatiin varmasti mukaan liuokseen. Sitten yhteen vakuumiputkista lisättiin vielä toinen 5 millilitraa, joka käytettiin samalla tavalla jokaisessa putkessa. Lopulta seos kaadettiin samaan putkeen, joka sisälsi jo aiemman PEG-etanolin ja solujen seoksen. Näin kaikkien vakuumiputkien solusakat yhdistettiin yhteen vakuumiputkeen, jossa oli yhteensä 10 millilitraa PEG-etanolia.

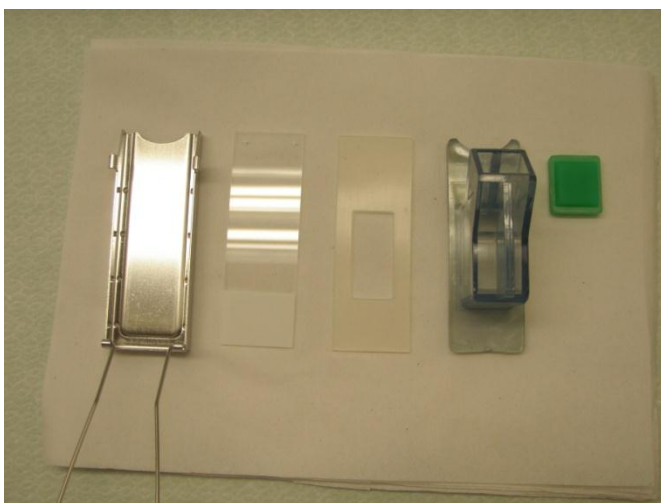


KUVA 13. PEG-etanolin ja solujen seos kaadettiin vakuumiputkesta toiseen (Kuva: Sirke Hatula & Ninni Hyvärinen 2011)

Tavallisen 50 millilitran sentrifugiputken pohjalle sakkautuneet solut irrotettiin putken pohjalta sekoittamalla putkea soluravistelijalla muutama sekunti. Sen jälkeen solujen

päälle lisättiin 10 millilitraa PEG-etanolia riippumatta sentrifugiputkessa alun perin olleesta näytemäärästä. PEG-etanolin lisäämisen jälkeen sentrifugiputkea sekoitettiin muutama sekunti soluravistelijalla, jotta kaikki putken pohjalla ja seinämällä olevat solut saatiin varmasti mukaan liukseen. Sitten PEG-etanolin ja siihen sekoittuneiden solujen liuos kaadettiin takaisin alkuperäiseen näytteenottopurkkiin. Nykyisellä menetelmällä käsiteltyä näytettä merkattiin isolla A-kirjaimella ja vakuumputkiin imettyä näytettä isolla B-kirjaimella. Kirjaimet kirjattiin purkkien kylkiin tussilla. Sekä A- että B-näyte jätettiin yön yli huoneenlämpöön fiksoitumaan.

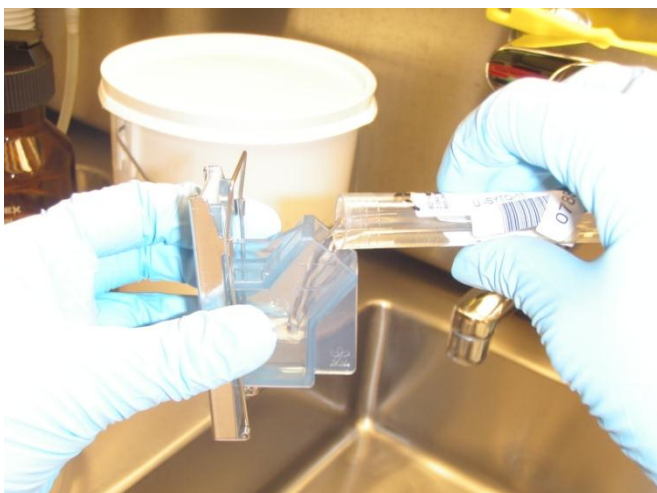
Seuraavana päivänä sekä A- että B- näytteestä tehtiin sytosentrifugivalmisteet Sakura Cyto-Tek® -sytosentrifugilla. Näytelaseina käytettiin SuperFrost Plus -objektilaseja, jotka identifioitiin juoksevilla näytenumerolla ja potilaan nimikirjaimilla. Lisäksi lasiin merkittiin joko A (nykyinen menetelmä) tai B (imettiin vakuumputkiin). Näytelasi, tislattua vedellä kostutettu muovinen rajaaja ja 12 millilitran kyveti kiristettiin metalliseen pidikkeeseen (kuva 14).



KUVA 14. Sytosentrifugoinnissa käytetyt välineet (vasemmalta): kyvetin pidike, objektilasi, rajaaja, kyveti ja kyvetin korkki (Kuva: Sirke Hatula & Ninni Hyvärinen 2011)

Molemmat näytteet sekoitettiin kääntelemällä sekä näytepurkkia (A-näyte) että näyteputkea (B-näyte) muutaman kerran ylösalaisin. A-näyte kaadettiin kyvetiin, johon oli kiinnitetty A-kirjaimella merkitty objektilasi, ja B-näyte kyvetiin, johon oli kiinnitetty B-kirjaimella merkitty objektilasi (kuva 15). Kyvetteihin lisättiin vielä 50-prosenttista etanolia merkkiviivaan, eli 12 millilitraan asti. Jos näyte oli samea, sitä

kaadettiin kyvetiin vain 0,25-1 millilitraa näytteen sameudesta riippuen, ja kyvetiin lisättiin 50-prosenttista etanolia 12 millilitran merkkiviivaan asti. Sameiden näytteiden kohdalla kyvetiin lisätty näytemäärä merkattiin sekä näytelasiin että näytepurkkiin. Täytetyt kyvetit suljettiin korkeilla ja sekoitettiin muutaman kerran ylösalaisin, jonka jälkeen ne asetettiin tasapainotettuna sytosentrifugin roottoriin. Kyvettejä sentrifugoitiin 5 minuuttia nopeudella 1000 rpm.



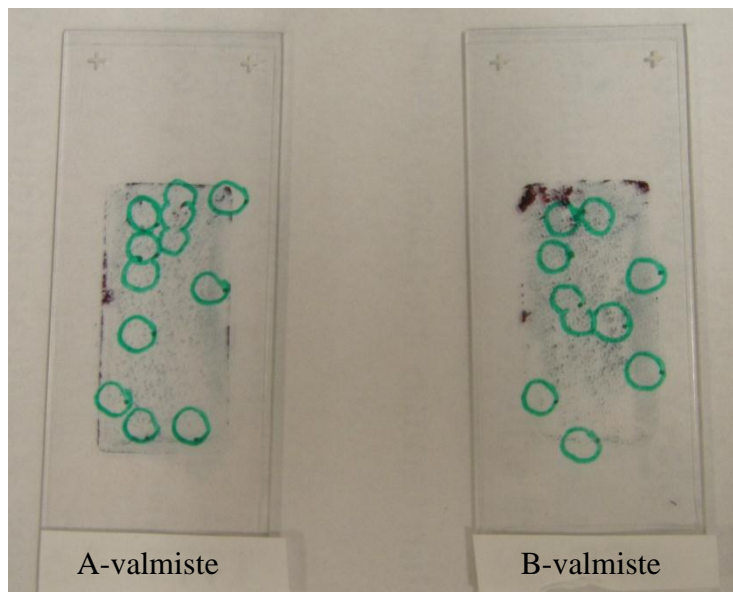
KUVA 15. Näytteen lisäys vakuumputkesta kyvetiin sytosentrifugointia varten (Kuva: Sirke Hatula & Ninni Hyvärinen 2011)

Välittömästi sytosentrifugoinnin jälkeen supernatantit kaadettiin pois kyveteistä ja kyvetit asetettiin hetkeksi ylösalaisin suodatinpaperille valumaan. Tämän jälkeen kyveti ja metalliosa poistettiin. Näytelasit asetettiin tarjottimelle rajaajien yhä ollessa paikoillaan ja tarjotin laseineen laitettiin Memmert-lämpökaappiin +37 Celsius-asteen lämpötilaan yöksi kuivumaan. Rajaajat voitiin poistaa näytelaseista muutaman tunnin kuivumisen jälkeen.

Kolmantena päivänä sytosentrifugivalmisteet värjättiin Papanicolaou-värjäyksellä. Värjäys suoritettiin Leica Autostainer XL -värjäysautomaatilla ohjelmalla 1. Ohjelma 1 on tarkoitettu muille sytologisille valmisteille kuin gynekologisille ja suodatinvalmisteille (Papanicolaou-värjäys, värjäysohje 2011). Värjäyksen jälkeen irtosoluvalmisteet päällystettiin Sakura Tissue-Tek® SCA -päällystysautomaatilla ja toimitettiin esitarkastettavaksi laboratoriohoitajalle. Esitarkastuksen suorittava laboratoriohoitaja tarkasteli irtosoluvalmisteet mikroskooppisesti ja ympyröi niistä huomioitavia solulöydöksiä patologin tarkastusta varten (kuva 16). Esitarkastaja myös



vertasi keskenään A- ja B-menetelmällä valmistettuja irtosoluvalmisteita. Tämän jälkeen irtosoluvalmisteet vietiin patologille tarkastettaviksi, joka myös mikroskopoi molemmilla menetelmillä valmistetut irtosoluvalmisteet ja antoi lopulliset vastaukset niiden perusteella.



KUVA 16. Värjätyt A- ja B-menetelmällä valmistetut virtsan irtosoluvalmisteet, joissa esitarkastajan tekemiä merkintöjä (Kuva: Sirke Hatula & Ninni Hyvärinen 2011)

### 7.2.2 Virtsan irtosoluvalmisteiden tarkastelu

Valmiiden virtsan irtosoluvalmisteiden mikroskopointi aloitettiin jo kokeellisen osion ensimmäisenä päivänä viikolla 51 Päijät-Hämeen sosiaali- ja terveysyhtymän patologian laboratorion tiloissa. Mikroskopointia varten opinnäytetyön tekijät saivat ohjausta työelämän ohjaajalta, jolla on vuosien kokemus sytologisten näytteiden esitarkastuksesta patologian laboratoriossa. Ohjauksessa käytiin ensin läpi virtsan normaalia sytologiaa, jonka jälkeen siirryttiin tarkastelemaan eri Papanicolaoun luokkiin kuuluvia virtsan irtosoluvalmisteita. Irtosoluvalmisteiden mikroskooppinen tarkastelu tapahtui Nikon ECLIPSE 80i -opetusmikroskoopilla, jonka avulla ohjaaja ensin opetti opinnäytetyön tekijöitä mikroskopimaan irtosoluvalmisteita. Loppuviikon opinnäytetyön tekijät mikroskopivat irtosoluvalmisteita itsenäisesti opetusmikroskoopilla. Viikon 51 aikana mikroskopoitiin kaikki irtosoluvalmisteet, jotka oli valmistettu viikolla 50 saapuneista näytteistä. Lisäksi mikroskopoitiin kolmesta

viikolla 51 saapuneesta näytteestä valmistetut irtosoluvalmisteet. Viikolla 51 mikroskoipoitiin yhteensä 16 näytteestä valmistetut irtosoluvalmisteet. Loput viikolla 51 saapuneista näytteistä valmistetut irtosoluvalmisteet eivät olleet valmiita mikroskoipoitaviksi tai olivat vielä esitarkastajan tai patologin mikroskoipoitavina.

Opinnäytetyön tekijät mikroskoipoivat loppuista 13 näytteestä valmistetut virtsan irtosoluvalmisteet viikolla 9 yhden päivän aikana. Yhdestä näytteestä valmistettu irtosoluvalmiste oli lähetetty ulkoiseen laadunarviointiin Hämeenlinnaan, joten tästä näytteestä valmistettuja irtosoluvalmisteita ei voitu mikroskopoida. Lopullinen otos koostui yhteensä 29 virtsan irtosolunäytteestä. Näin ollen näytteistä A- ja B-menetelmällä valmistettuja irtosoluvalmisteita kertyi yhteensä 58 kappaletta. Otokseen kuuluvien virtsanäytteiden indikaatioita olivat "tähystykseen tuleva" (11 näytettä), "verivirtsaisuus" (9), "kontrolli" (6) ja "rakkosyöpäpotilas" (3).

Kaikki irtosoluvalmisteet mikroskoipoitiin yhdessä opetusmikroskoopilla. Jokainen irtosoluvalmiste tarkasteltiin ensin 10-kertaisella suurennoksella, ja lähempi morfologinen tarkastelu suoritettiin 20- ja 40-kertaisilla suurennoksilla. Okulaarien suurennos oli 10-kertainen ja näkökenttäluku 22. Kysymyksiä herättävien irtosoluvalmisteiden kohdalla opinnäytetyön tekijät kääntyivät esitarkastajan puoleen, jonka kanssa katsottiin irtosoluvalmisteita yhdessä ja keskusteltiin niistä tehdyistä havainnoista. Mikroskoppinnin tukena opinnäytetyön tekijät käyttivät patologin antamia lausuntoja irtosoluvalmisteista. Esitarkastaja oli ympyröinyt irtosoluvalmisteista huomioitavia kohtia, jotka myös osaltaan olivat mikroskoppinnin tukena. Irtosoluvalmisteet tarkasteltiin ja arvioitiin ensin ilman patologin antamia lausuntoja, jonka jälkeen omia havaintoja verrattiin patologin antamaan lausuntoon. Viikon 51 toiseksi viimeisenä päivänä opinnäytetyön tekijät ja esitarkastaja vertasivat irtosoluvalmisteista tekemiään havaintoja. Tehdyistä havainnoista laadittiin taulukko tulosten tarkastelun ja johtopäätösten teon helpottamiseksi. (liite 3.) Lisäksi havaintojen yhteyteen merkattiin patologin antama lausunto.

Vertailtavissa valmisteissa ilmeneviä yhtäläisyyksiä ja eroja kuvattiin patologian laboratorion OLYMPUS BX60-mikroskoopin kameralla ColorView IIIu:lla. Okulaarien suurennos oli 10-kertainen ja näkökenttäluku 22. Irtosoluvalmisteiden yleistä solukuvaa havainnollistamaan otettiin kuvia 10- kertaisella suurennoksella ja solujen morfologista tarkastelua varten kuvia otettiin 40- kertaisella suurennoksella.

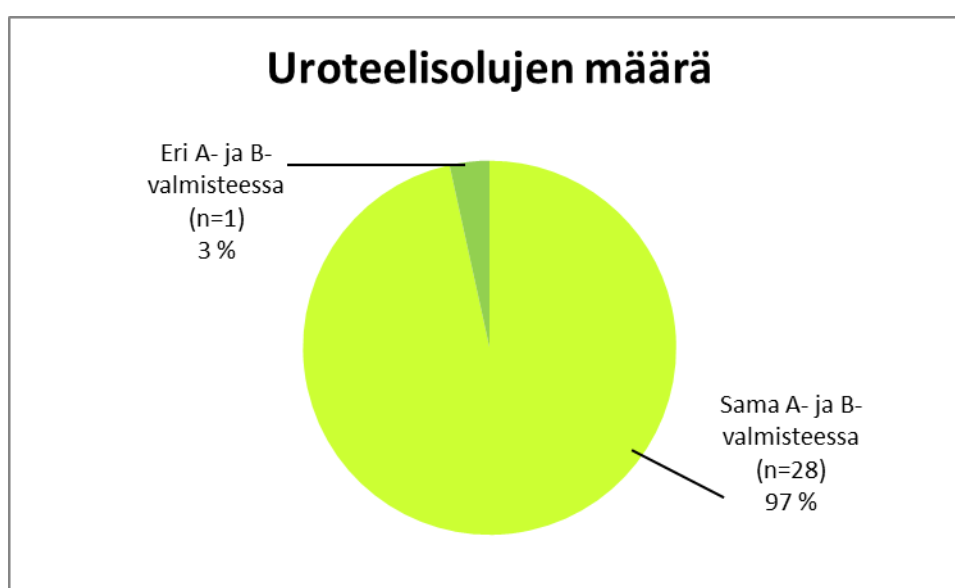
Uroteelisolujen määrää merkattiin plus-merkillä yhdestä kolmeen seuraavasti: yksi plus-merkki [+] merkitsi niukkaa, kaksi plus-merkkiä [++] kohtalaista ja kolme plus-merkkiä [+++] runsasta uroteelisolujen määrää valmisteessa. Tarkkoja uroteelisolumääriä yhdessä irtosoluvalmisteessa ei laskettu, vaan irtosoluvalmisteiden uroteelisolujen määrää tarkasteltiin kokonaisuutena.

Uroteelisolujen morfologiaa kuvailtiin sanallisesti. Normaaleja uroteelisoluja sisältäviksi irtosoluvalmisteiksi laskettiin myös ne valmisteet, joissa oli nähtävissä solujen degeneraatiota, sillä degeneraatio saattaa johtua myös liian pitkästä rakkoajasta. Kuvailua käytettiin vain, jos uroteelisoluissa oli jotakin tavallisuudesta poikkeavaa, kuten jos tuma-sytoplasma-suhde oli muuntunut, tumissa oli hyperkromasiaa, tai valmisteessa oli nähtävissä reaktiivista atypiaa. Lisäksi, jos uroteelisolujen morfologiassa oli eroavaisuuksia A- ja B-valmisteiden välillä, se merkattiin taulukkoon sanallisesti. Lisäksi mahdolliset tulehduksesta ja suolirakosta johtuvat solulöydökset sekä näytteen runsas punasolujen määrä merkattiin sanallisesti taulukkoon.

Uroteelisolujen ryhmittymistä merkattiin plus-merkillä yhdestä kolmeen. Yksi plus-merkki [+] merkitsi vähäistä, kaksi plus-merkkiä [++] kohtalaista ja kolme plus-merkkiä [+++] runsasta uroteelisolujen ryhmittymistä. Miinus-merkki [ - ] tarkoitti, että uroteelisolut eivät esiintyneet ryhmissä. Tarkkoja uroteelisoluryhmien määriä yhdessä irtosoluvalmisteessa ei laskettu, vaan uroteelisoluryhmien määrää tarkasteltiin kokonaisuutena. Uroteelisoluryhmistä tarkasteltiin määrän lisäksi ryhmien kokoa ja muotoa kuten papillaarisuutta. Valmisteiden kohdalla käytettiin sanallista kuvailua, jos A- ja B-valmisteissa oli eroavaisuuksia uroteelisoluryhmien koon ja muodon suhteen. Irtosoluvalmisteiden Papanicolaou-luokat merkattiin roomalaisin numeroin I-V.

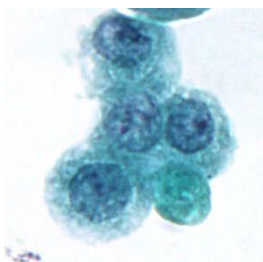
## 8 TUTKIMUSTULOKSET

Viisitoista (n=15) virtsan irtosoluvalmistetta eli 26 % oli uroteelisolumäärältään niukkoja [+]. Kolmekymmentäyhdeksän (n=39) irtosoluvalmistetta eli 67 % oli uroteelisolumäärältään kohtalaisia [++]. Neljä irtosoluvalmistetta eli 7 % oli uroteelisolumäärältään runsaita [+++]. Vertailtaessa A- ja B-valmisteita keskenään, yhdessä näytteessä solujen määrä oli B-valmisteessa [+] vähäisempää kuin A-valmisteessa [++]. Näin ollen A- ja B-valmisteiden välinen vastaavuus oli 97 % (kuvio 1).

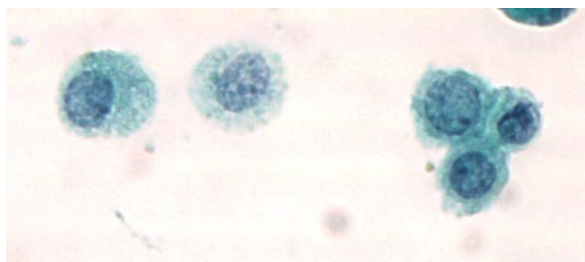


KUVIO 1. Uroteelisolujen määrän vastaavuus A- ja B-valmisteiden välillä (n=29)

Morfologialtaan normaaleja uroteelisoluja sisältäviä irtosoluvalmisteita oli kaksikymmentäkaksi (n=22) eli 38 %. Kolmessakymmenessäkuudessa (n=36) eli 62 %:ssa irtosoluvalmisteista uroteelisoluissa oli reaktiivista atypiaa, tuman hyperkromasiaa tai karkeaa kromatiinirakennetta. Vertailtaessa A- ja B- valmisteita keskenään kaikissa B-valmisteissa (n=29) uroteelisolujen morfologiset ominaisuudet olivat samat kuin A-valmisteessä. Näin ollen A- ja B-valmisteiden välinen vastaavuus oli 100 % (kuva 17; kuva 18).



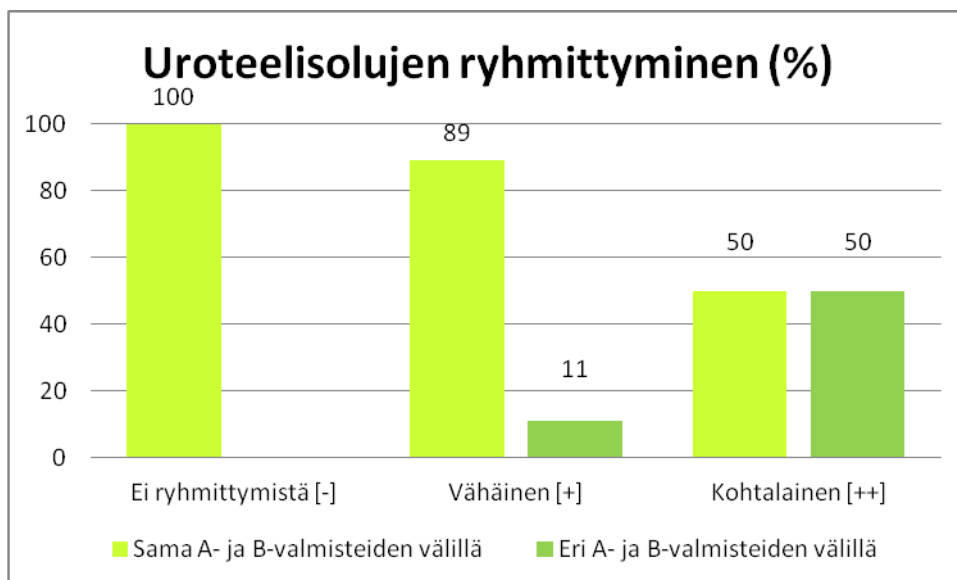
KUVA 17.



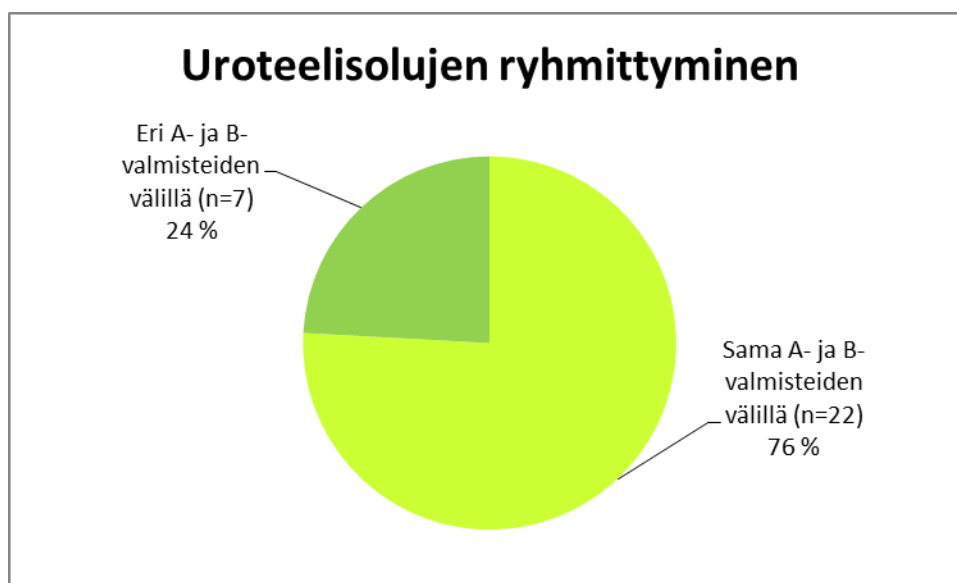
KUVA 18.

Kuvissa 17 (A-menetelmä) ja 18 (B-menetelmä) kuvattu uroteelisolujen morfologian yhteneväisyyttä A- ja B-valmisteiden välillä (Kuvat: Sirke Hatula & Ninni Hyvärinen 2011)

Seitsemässätoista (n=17) irtosoluvalmisteessa eli 29 %:ssa ei ollut uroteelisolujen ryhmittymistä. Kahdessakymmenessäkahdessa (n=22) irtosoluvalmisteessa eli 38 %:ssa oli vähäistä, kahdeksassa (n=18) eli 31 %:ssa kohtalaista ja yhdessä eli 2 %:ssa runsasta ryhmittymistä. Vertailtaessa A- ja B- valmisteita keskenään, kahdeksassa A-valmisteessa, joissa ei ollut uroteelisolujen ryhmittymistä [ - ], sitä ei ollut B-valmisteissakaan. Tältä osin A- ja B-valmisteiden välinen vastaavuus oli 100 %. Niissä yhdeksässä A-valmisteessa, joissa oli vähäistä ryhmittymistä [+], sitä oli myös kahdeksassa B-valmisteessa, jolloin vastaavuus oli 89 %. Yksi erilainen B-valmiste ei sisältänyt ryhmittymistä [ - ]. Niissä kahdessatoista (n=12) A-valmisteessa, joissa oli kohtalaista ryhmittymistä [++], sitä oli myös kuudessa B-valmisteessa, jolloin vastaavuus oli 50 %. Viidessä erilaisessa B-valmisteessa ryhmittyminen oli niukkaa [+] ja yhdessä runsasta [+++]. A-valmisteissa ei esiintynyt runsasta ryhmittymistä (kuvio 2). Kaiken kaikkiaan vertailtaessa A- ja B- valmisteita keskenään, yhteensä kaksikymmentäkaksi (n=22) B-valmistetta vastasi ryhmittymiseltään A-valmistetta. Näin ollen A- ja B-valmisteiden välinen vastaavuus oli 76 % (kuvio 3).



KUVIO 2. Uroteelisolujen ryhmittymisen vastaavuus A- ja B-valmisteiden välillä, kun A-valmisteessa ei ollut ryhmittymistä ja kun ryhmittyminen oli vähäistä tai kohtalaista



KUVIO 3. Uroteelisolujen ryhmittymisen vastaavuus A- ja B-valmisteiden välillä (n=29)

Niissä kuudessa A-valmisteessa, joissa oli papillaarisia uroteelisoluryhmiä, niitä oli myös neljässä B-valmisteessa, jolloin vastaavuus oli 67 %. Yhdessä erilaisessa B-valmisteessa ei ollut papillaarisia uroteelisoluryhmiä, ja yhdessä oli enemmän papillaarisia uroteelisoluryhmiä kuin A-valmisteessa.

Kaksikymmentäkaksi (n=22) irtosoluvalmistetta eli 38 % luokiteltiin Papanicolaou-luokkaan I, kaksikymmentäneljä (n=24) valmistetta eli 41 % luokkaan II, kahdeksan valmistetta eli 14 % luokkaan III ja kaksi valmistetta eli 7 % luokkaan IV. Papanicolaou-luokkaan V kuuluvia irtosoluvalmisteita ei ollut.

Luokkaan I kuului yksitoista (n=11) A-valmistetta ja kaikki vastaavat B-valmisteet kuuluivat samaan luokkaan. Luokkaan II kuului yksitoista (n=11) A-valmistetta ja kaikki vastaavat B-valmisteet kuuluivat samaan luokkaan. Luokkaan III kuului viisi A-valmistetta. Vastaavista B-valmisteista kolmessa oli sama luokka ja loput kaksi B-valmistetta kuuluivat luokkaan II. Luokkaan IV kuului kaksi A-valmistetta ja molemmat vastaavat B-valmisteet kuuluivat samaan luokkaan. Kaiken kaikkiaan kahdenkymmenenseitsemän (n=27) B-valmisteen Papanicolaou-luokka oli sama kuin A-valmisteen, jolloin vastaavuus A- ja B-valmisteiden välillä oli 93 % (kuvio 4).

<b>Papanicolaou-luokka</b>	<b>A-valmiste</b>	<b>B-valmiste</b>
<b>I</b>	11	11
<b>II</b>	11	11
<b>III</b>	<b>5</b>	<b>3</b>
<b>IV</b>	2	2
<b>V</b>	-	-

KUVIO 4. Irtosoluvalmisteden Papanicolaou-luokan vastaavuus A- ja B-valmisteiden välillä (n=29)

## 9 POHDINTA

### 9.1 Johtopäätökset ja tulosten tarkastelu

Mikroskoipoitujen virtsan irtosoluvalmisteiden uroteelisolujen määrästä, morfologiasta ja ryhmittymisestä sekä irtosoluvalmisteiden Papanicolaou-luokituksesta tehtyjen havaintojen perusteella suurimman osan A- ja B-menetelmällä valmistettujen irtosoluvalmisteiden välillä ei ollut havaittavissa suuria muutoksia.

Uroteelisolujen määrä oli samanlaista lähes kaikkien vertailtavien A- ja B-valmisteiden välillä. Vakuumiputken käytön ei siis havaittu vähentävän tai lisäävän solujen määrää virtsan irtosoluvalmisteessa. Uroteelisolujen morfologiset ominaisuudet säilyivät samanlaisina B-menetelmällä valmistetuissa irtosoluvalmisteissa kuin A-menetelmällä valmistetuissa irtosoluvalmisteissa. Riippumatta siitä, olivatko uroteelisolut morfologialtaan normaaleja vai oliko niissä normaalista poikkeavia muutoksia, B-menetelmällä valmistettujen virtsan irtosoluvalmisteiden uroteelisolut olivat samanlaisia kuin A-menetelmällä valmistetuissa irtosoluvalmisteissa. Vakuumiputken ei siis havaittu aiheuttavan uroteelisoluihin morfologisia muutoksia. Nämä tulokset puoltavat vakuumiputken käytön soveltuvuutta virtsanäytteen käsittelyyn irtosolututkimuksen yhteydessä.

Suurimmat eroavaisuudet A- ja B-menetelmällä valmistettujen irtosoluvalmisteiden välillä havaittiin uroteelisolujen ryhmittymisessä ja papillaaristen uroteelisoluryhmien esiintymisessä. Kaikki B-valmisteet eivät sisältäneet yhtä paljon uroteelisoluryhmiä verrattuna A-valmisteeseen ja lisäksi kolmessa B-valmisteessä uroteelisoluryhmät olivat kooltaan pienempiä kuin A-valmisteessä. Näytteen imeminen vakuumiputkeen on siis saattanut hajottaa näytteessä olevia uroteelisoluryhmiä. Kahdessa näytteessä erot uroteelisolujen ryhmittymisessä ja papillaaristen uroteelisoluryhmien esiintymisessä merkitsivät Papanicolaou-luokan muuttumista A- ja B-valmisteiden välillä: kaksi A-menetelmällä valmistettua irtosoluvalmistetta kuuluivat Papanicolaou-luokkaan III, kun taas B-menetelmällä valmistetut irtosoluvalmisteet kuuluivat luokkaan II. Näin ollen vakuumiputken käytöllä oli vaikutusta myös virtsan irtosoluvalmisteen Papanicolaou-luokkaan. Papanicolaou-luokan muuttuminen yhden luokan verran A- ja B-menetelmällä valmistettujen virtsan irtosoluvalmisteiden välillä on sytologisen



diagnoosin kannalta merkittävä. Tulokset siis viittaavat siihen, että vakuumputken käyttö ei välttämättä sovellu virtsan käsittelyyn virtsan irtosolututkimuksen yhteydessä.

## 9.2 Opinnäytetyön luotettavuus ja eettisyys

Opinnäytetyön luotettavuutta lisää se, että kaikki näytteet käsiteltiin patologian laboratoriossa laboratoriohoitajien valvonnassa virtsan irtosolututkimuksen työohjetta noudattaen. Opinnäytetyön kokeellista osuutta varten patologian laboratorion henkilökunta oli laatinut kirjallisen työohjeen, jota noudatettiin kaikkien opinnäytetyössä käytettyjen virtsan irtosolunäytteiden käsittelyssä. Opinnäytetyön tekijät seurasivat ensin, miten laboratoriohoitaja valmisti virtsan irtosoluvalmisteita ja alkoivat sitten itse valmistaa valmisteita laboratoriohoitajan valvonnassa.

Tutkittava näytemateriaali vakioitiin rajaamalla otokseksi Päijät-Hämeen keskussairaalan polikliinisessa näytteenotossa annetut virtsan irtosolunäytteet. Opinnäytetyössä ei tutkittu katetrilla tai rakkohuuhteluina otettuja virtsan irtosolunäytteitä. Otoksen vakiointi lisää opinnäytetyön luotettavuutta. Kuten suunniteltiin, otoksessa oli sekä normaaleja että patologisia virtsan irtosolunäytteitä. Suurin osa näytteistä kuului kuitenkin Papanicolaou-luokkaan I tai II, mikä vähentää tutkimuksen luotettavuutta. Otokseen kuuluvista näytteistä yksikään ei kuulunut Papanicolaou-luokkaan V. Jos otos olisi sisältänyt enemmän patologisia näytteitä, niin vakuumputken vaikutusta uroteelisoluryhmien esiintymiseen ja kokoon olisi voitu tutkia luotettavammin. Otoksiko (n=29) oli lisäksi melko pieni, ja suurempi otos olisikin lisännyt tutkimuksen luotettavuutta ja yleistettävyyttä.

Virtsanäytteiden esikäsittelyvaiheessa 11 millilitran vakuumputket täytettiin ensin, jotta jokainen niistä täyttyi kokonaan ja jotta viimeiseen vakuumputkeen ei jäänyt soluja hajottavaa alipainetta. Loppu näytemäärä kaadettiin 50 millilitran sentrifugointiputkeen, jolloin sen sisältämä näytemäärä saattoi hieman poiketa vakuumputkien sisältämästä näytemäärästä. Tämä ei kuitenkaan aiheuttanut eroavaisuutta uroteelisolujen määrässä vertailtavien irtosoluvalmisteiden välillä.

Erot A- ja B-menetelmällä valmistettujen irtosoluvalmisteiden välillä voivat johtua uroteelisolujen kiinnittymisestä vakuumputkien seinämiin johtuen näytteen siirtelystä

vakuumiputkesta toiseen B-menetelmässä. Näytteen siirtely vakuumiputkesta toiseen lisäsi näytteen kontaktia putkien sisäpintaan, mikä saattoi lisätä uroteelisolujen tarttumista vakuumiputkien seinämiin. Tutkimustuloksissa A- ja B-menetelmällä valmistettujen irtosoluvalmisteiden välillä ei solujen määrässä kuitenkaan havaittu merkittäviä eroja. Sen sijaan uroteelisolujen ryhmittymisessä ja papillaaristen uroteelisoluryhmien esiintymisessä havaittiin eroja, mikä on saattanut johtua uroteelisoluryhmien tarttumisesta vakuumiputkien seinämiin.

Näytteiden esikäsittelyn vakiointia olisi voinut parantaa sekoittamalla A- ja B-näytteitä yhtä monta kertaa soluravistelijalla, jotta A- ja B-näytteiden erilaisesta sekoittamisesta johtuvat eroavaisuudet olisi suljettu pois. Valmisteiden A ja B välillä esiintyvät erot uroteelisolujen ryhmittymisessä ja papillaaristen uroteelisoluryhmien esiintymisessä saattavat johtua vakuumiputkien useasta sekoituskerrasta soluravistelijalla PEG-etanolia lisättäessä.

Opinnäytetyön luotettavuutta vähentää se, että virtsan irtosolunäytteet käsiteltiin eri menetelmällä, kuin mikä on käytäntönä yhtymän jäsenkuntien laboratorioissa. Menetelmässä A käytettiin patologian laboratoriossa käytössä olevaa tavallista 50 millilitran sentrifugointiputkea, kun taas jäsenkuntien laboratorioissa on käytössä 10 millilitran sentrifugointiputket. Tästä johtuen tutkimustuloksia ei voida suoraan soveltaa jäsenkunnista tuleviin virtsan irtosolunäytteisiin.

Mikäli sytosentrifugivalmiste jouduttiin valmistamaan tavallista pienemmästä näytemäärästä esimerkiksi näytteen sameuden takia, se merkattiin muistiin. Tällöin kuitenkin sekä A- että B-menetelmällä valmistetut irtosoluvalmisteet sisälsivät aina yhtä paljon näytemateriaalia, joten irtosoluvalmisteet säilyivät vertailukelpoisina.

Opinnäytetyön tekijät tarkastelivat virtsan irtosoluvalmisteet yhdessä opetusmikroskoopilla. Tällöin irtosoluvalmisteista tehdyt havainnot pystyttiin heti yhdistämään ja niitä voitiin pohtia yhdessä. Irtosoluvalmisteiden tarkastelemista varten opinnäytetyön tekijät saivat ohjeistusta laboratoriohitoajalta, joka toimii sytologisten näytteiden esitarkastajana. Lisäksi opinnäytetyön tekijät keskustelivat irtosoluvalmisteista tekemistään havainnoista yhdessä esitarkastajan kanssa. Opinnäytetyön tekijät eivät ennen irtosoluvalmisteiden mikroskopointia tienneet lähteiden esitietoja tai irtosoluvalmisteista annettuja sytologisia diagnooseja, jotka

olisivat voineet vaikuttaa irtosoluvalmisteista tehtyihin havaintoihin. Irtosoluvalmisteesta annettua sytologista diagnoosia verrattiin vasta mikroskoppoinnin jälkeen opinnäytetyön tekijöiden itse tekemiin havaintoihin. Opinnäytetyön luotettavuutta laskee kuitenkin opinnäytetyön tekijöiden vähäinen kokemus virtsan irtosoluvalmisteiden mikroskoppoinnista. Opinnäytetyön luotettavuutta olisi lisännyt se, että opinnäytetyön tekijät olisivat ensin tarkastelleet virtsan irtosoluvalmisteet itsenäisesti ja sen jälkeen vertailleet tekemiään havaintoja keskenään. Vertailtavat irtosoluvalmisteet mikroskoipoitiin siten että ensin mikroskoipoitiin A-valmiste ja sen jälkeen B-valmiste. Luotettavuutta olisi parantanut se, että irtosoluvalmisteet olisi mikroskoipoitu satunnaisessa järjestyksessä. Tällöin B-valmisteen mikroskopointia eivät olisi johdatellut A-valmisteesta tehdyt havainnot.

Tutkimustuloksissa tulee ottaa huomioon, että myös samasta näytteestä samalla menetelmällä valmistetut irtosoluvalmisteet ovat aina keskenään hieman erilaisia, sillä solut voivat jakautua valmisteisiin eri tavalla. Tämän on myös syy siihen, minkä vuoksi uroteelisolujen määrää ei laskettu A- ja B-valmisteista solu solulta, vaan huomiota kiinnitettiin kokonaisuuteen. Sama koskee myös uroteelisoluryhmiä.

Kourin, Malminiemen, Vuotarın ja Pelkosen tutkimuksessa (Virtsanäytteiden säilyvyys liuskalaskentaa ja partikkelilaskentaa varten – kaupallisten näyteputkien evaluaatio, 2007) todettiin, että vakuumiputkeen imetystä virtsanäytteestä voidaan tehdä mikroskooppisia tutkimuksia, mikä tarkoittaa sitä, että vakuumiputki ei vaikuttanut solujen ominaisuuksiin. Verrattaessa opinnäytetyön tuloksia aiemmin mainitun tutkimuksen tuloksiin voidaan todeta, että tutkimusten tulokset ovat samansuuntaisia. Virtsanäytteen solut säilyivät ehjinä molemmissa tutkimuksissa vakuumiputkeen imettyinä. Tämä parantaa osaltaan opinnäytetyön luotettavuutta. Muita vakuumiputkeen liittyviä tutkimuksia ei tässä työssä mainita, koska ne eivät suoranaisesti liity tähän työhön. Koska aiemmin tehtyjen tutkimusten tarkoitukset olivat niin erilaiset verrattuna opinnäytetyön tarkoitukseen, ei nähty tarkoituksenmukaisena vertailla aiempien tutkimusten tuloksia opinnäytetyön tuloksiin.

Tutkimuksen parannusehdotuksena virtsan irtosolunäytteiden esikäsittely rinnakkaisilla menetelmillä tulisi yhtenäistää siten, että näytteet jaettaisiin A- ja B-näytteiksi samankokoisiin putkiin. A-näyte tulisi kaataa vakuumittomiin putkiin ja B-näyte imeä samankokoisiin vakuumiputkiin. Lisäksi rinnakkaisia putkia tulisi sekoittaa

soluravistelijalla yhtä monta kertaa. Tämä parantaisi tutkimuksen vakiointia ja tällöin saataisiin varmemmin selville pelkästään vakuumiputken vakuumista aiheutuvat muutokset virtsan irtosoluvalmisteessa. Otoksen tulisi myös olla suurempi ja sen tulisi sisältää monipuolisemmin eri Papanicolaou-luokkaan kuuluvia näytteitä.

Opinnäytetyön jatkotutkimuksena voitaisiin selvittää, kuinka kauan virtsanäyte säilyy vakuumiputkessa fiksoimattomana, niin että se säilyisi tutkimuskelpoisena virtsan sytologista tutkimusta varten. Tietoa voitaisiin soveltaa esimerkiksi kotinäytteenottoon virtsan irtosolututkimusta varten sekä virtsan irtosolunäytteiden putkittamiseen, lähettämiseen ja kuljetukseen jäsenkuntien laboratorioista.

Lähdekriittinen ajattelu eli lähdemateriaalin luotettavuuden arviointi on tärkeää tutkimusta tehdessä. Lähteen aitoutta ja puolueettomuutta tulee arvioida kriittisesti. (Mäkinen 2006, 128.) Tässä opinnäytetyössä on käytetty lähteinä sekä kotimaista että ulkomaista lähdekirjallisuutta, joista suurin osa on 2000-luvulta. Opinnäytetyössä on oppikirjojen lisäksi käytetty myös kotimaisia ja ulkomaisia artikkeleita. Opinnäytetyön teoriaosuudessa on käytetty lähteenä Koivuniemen (1994) Kliininen sytologia-oppikirjaa. Opinnäytetyön tekijät kuitenkin arvioivat tämän lähteen tarpeeksi luotettavaksi, sillä periaatteet liittyen sytologiaan ja virtsan irtosolututkimukseen eivät ole muuttuneet, ja kyseistä kirjaa käytetään apuna myös kliinisessä laboratoriotyössä. Opinnäytetyön tekijät joutuivat pohtimaan joitakin eroavaisuuksia kotimaisten ja ulkomaisten lähteiden välillä liittyen esimerkiksi näytteiden fiksaatioon. Joidenkin ulkomaisten lähteiden mukaan fiksaatio ei ole tarpeellinen mikäli näyte käsitellään 24 tunnin sisällä näytteenannosta. Teoriaosuuteen valittiin ne lähteet, jotka vastasivat Suomessa olevia käytäntöjä. Lähteiden vertailu kasvatti kuitenkin opinnäytetyön tekijöiden lähdekriittistä ajattelua.

Tutkimuksen eettisyyteen liittyy olennaisesti tutkimusaineiston käsittelyn luottamuksellisuus. Tutkimuksen tekijät sitoutuvat noudattamaan tutkimusaineiston käytöstä ja käsittelystä sovittuja ehtoja. Henkilötietolaki velvoittaa tutkimuksen tekijöitä henkilötietoja sisältävän tutkimusaineiston oikeanlaisesta käsittelystä, joista olennaisena osana on vaitiolovelvollisuuden noudattaminen. Tutkimusaineiston keruun ja käytön lisäksi tutkimuksen tekijöiden tulee olla tietoisia myös tutkimusaineiston asianmukaisesta säilyttämisestä tai hävittämisestä. (Henkilötietolaki 1999; Mäkinen 2006, 147–148.) Opinnäytetyön näyttemateriaali ja tutkimusaineisto käsiteltiin

anonyymeina. Virtsan irtosoluvalmisteiden mikroskopoinnissa käytettiin irtosoluvalmisteille annettuja juoksevia näytenumeroita. Näytenumeroita ei merkattu lopulliseen havainnointitaulukkoon, vaan näytteille annettiin uudet numerot 1-30. Kaikki virtsan irtosoluvalmisteet mikroskoipoitiin patologian laboratoriossa, millä estettiin näytetietojen joutuminen ulkopuolisille. Opinnäytetyössä tarkastellut virtsan irtosoluvalmisteet arkistoitiin patologian laboratorion käytäntöjen mukaisesti.

## LÄHTEET

- Aho, H. 2000. Sytologiset värjäykset. *Moodi* 24 (4-5), 142–147.
- Alahuhta, M., Hyväri, T., Linnanvuo, M., Kylmäaho, R. & Mukka, H. 2008. *Munuaissairaanhoidon hoito*. 1. painos. Helsinki: Edita Prima Oy.
- Atkinson, B. F. 2004. *Atlas of Diagnostic Cytopathology*. 2. painos. Yhdysvallat, Philadelphia: Elsevier Inc.
- Bancroft, J. D. & Gamble, M. 2002. *Theory and Practice of Histological Techniques*. Viides painos. Yhdysvallat, Philadelphia: Churchill Livingstone.
- Becton, Dickinson and Company. 2011. BD Vacutainer® Urine Products. Tuotekuvaus.
- Bhatia, A., Dey, P., Kakkar, N., Srinivasan, R. & Nijhawan, R. 2006. Malignant atypical cell in urine cytology : A diagnostic dilemma. *CytoJournal* 3 (1), 28.
- Bjälle, J. G., Haug, E., Sand, O., Sjaastad, Ø. V. & Toverud, K. C. 2007. *Ihminen - fysiologia ja anatomia*. 1.-4. painos. Helsinki: WSOY.
- Gray, W. & McKee, G. T. 2002. *Diagnostic Cytopathology*. 2. painos. Yhdysvallat, Philadelphia: Churchill Livingstone.
- Gray, W. & McKee, G. T. 2003. *Diagnostic Cytopathology*. 2. painos. Yhdysvallat, Philadelphia: Churchill Livingstone.
- Greiner Bio-One. 2007. Vacuette® Urine Tubes. Tuotekuvaus. nd. Luettu 21.8.2012. [www.gbo.com/en/index\\_1793.php](http://www.gbo.com/en/index_1793.php).
- Henkilötietolaki 22.4.1999/523. 1999. Finlex® - Valtion säädöstietopankki. Luettu 30.9.2012. [www.finlex.fi/fi/laki/ajantasa/1999/19990523](http://www.finlex.fi/fi/laki/ajantasa/1999/19990523).
- Hirsjärvi, S., Remes, P. & Sajavaara, P. 1997. *Tutki ja kirjoita*. Helsinki: Kirjayhtymä Oy.
- Hirsjärvi, S., Remes, P. & Sajavaara, P. 2002. *Tutki ja kirjoita*. 6.-8. painos. Vantaa: Kirjayhtymä Oy.
- Kananen, J. 2008. *Kvali. Kvalitatiivisen tutkimuksen teoria ja käytänteet*. Jyväskylän ammattikorkeakoulun julkaisuja-sarja.
- Keebler, C. M. & Somrak, T. M. 1993. *The Manual of Cytotechnology*. 7. painos. Yhdysvallat, Chicago: American Society of Clinical Pathologists.
- King Strausinger, S. & Schaub Di Lorenze, M. 2001. *Urinalysis and Body Fluids*. 4. painos. Philadelphia: F. A. Davis Company.
- Koivuniemi, A. (toim.) 1994. *Kliininen sytologia. Irto- ja harjaintosolu- ja ohutneulabiopsiatutkimukset*. Forssa: Kandidaattikustannus Oy.

Kouri, T. 1998. Virtsan mikroskopia. Teoksessa Rantala, I. & Lounatmaa, K. (toim.) Biologinen valomikroskopia. Helsinki: Helsingin yliopisto, 107.

Käypä hoito. 2011. Virtsatieinfektiot. Suomalainen Lääkäriseura Duodecim. Päivitetty 7.9.2011. Luettu 9.5.2012.  
[www.kaypahoito.fi/web/kh/suositukset/naytaartikkeli/tunnus/hoi10050?](http://www.kaypahoito.fi/web/kh/suositukset/naytaartikkeli/tunnus/hoi10050?)

Layfield, L. J., Elsheikh, T. M., Fili, A., Nayar, R. & Shidham, V. 2003. Review of the State of the Art and Recommendations of the Papanicolaou Society of Cytopathology for Urinary Cytology Procedures and Reporting. The Papanicolaou Society of Cytopathology Practice Guidelines Task Force. Diagnostic Cytopathology 30 (1), 24-30.

McKee, G. T. 2005. Atlas of Non-Gynecologic Cytology. United Kingdom: Taylor & Francis.

Mäkinen, O. 2006. Tutkimusetiikan ABC. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi.

Nese, N., Gupta, R., Bui, M.H. & Amin, M.B. 2009. Carcinoma in situ of the urinary bladder: review of clinicopathologic characteristics with an emphasis on aspects related to molecular diagnostic techniques and prognosis. Journal of the National Comprehensive Cancer Network 7 (1), 48-57.

Penttilä, I. Kliiniset laboratoriotutkimukset. 2004. 1. painos. Porvoo: WS Bookwell Oy.

Pekkarinen, T., Häkkinen, J., Leskinen, M. J., Isotalo, T., Rautanen, M., Tolonen, T., Salminen, P. & Tammela, T. L. J. 2011. Aikuisen oireeton mikroskooppinen verivirtsaisuus. Tarvitseeko potilas urologisia tutkimuksia? Suomen Lääkärilehti 66 (22), 1825 – 1827.

PHSOTEY. Päijät-Hämeen sosiaali- ja terveydenhuollon kuntayhtymä. 2009. Virtsan irtosolututkimus. Potilasohje.

PHSOTEY. Päijät-Hämeen sosiaali- ja terveydenhuollon kuntayhtymä. Patologia. 2008. Virtsan irtosolututkimus. Tutkimusohje. Päivitetty 25.9.2008. Luettu 20.10.2011.  
[www.phsotey.fi/tulosryhmat/laaketieteellistenpalvelujenkeskus/tiedot.php?uusiatk=4078&tunniste=1168&haku=&vy=4010](http://www.phsotey.fi/tulosryhmat/laaketieteellistenpalvelujenkeskus/tiedot.php?uusiatk=4078&tunniste=1168&haku=&vy=4010).

PHSOTEY. Päijät-Hämeen sosiaali- ja terveydenhuollon kuntayhtymä. Patologia. 2011a. Sytosentrifugivalmiste. Työohje.

PHSOTEY. Päijät-Hämeen sosiaali- ja terveydenhuollon kuntayhtymä. Patologia. 2011b. Papanicolaou-värjäys. Työohje.

PHSOTEY. Päijät-Hämeen sosiaali- ja terveydenhuollon kuntayhtymä. Patologia. 2011c. Vastausesimerkki virtsan irtosoluvalmisteesta patologian laboratoriossa.

Raitanen, M. 2010. Uusia työkaluja virtsarakkosyövän diagnostiikkaan ja hoitoon. Suomen Lääkärilehti 65 (35), 2741.

Raitanen, M., Hellström, P., Kaasinen, E., Liukkonen, T., Marttila, T. & Rintala, E. 2008. Pinnallinen virtsarakkosyöpä. Lääketieteellinen Aikakauskirja Duodecim 124 (14), 1648–1656.

Raitanen, M., Marttila, T. & Tammela, T.L.J. 2000. Virtsarakkosyövän muuttuva diagnostiikka ja seuranta. Suomen Lääkärilehti 55 (6), 573–577.

Remola-Pärssinen, E. patologian laboratorion osastonhoitaja. 2011–2012. Henkilökohtainen tiedonanto. Sähköpostiviestit. Lokakuu 2011-elokuu 2012.

Repo, L. laboratoriohoitaja. 2011. Henkilökohtainen tiedonanto. Suullinen tiedonanto. 19.12.–23.12.2011.

Ross, M. H. & Pawlina, W. 2006. Histology - a Text and Atlas. 5. painos. Yhdysvallat, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.

Sand, O., Sjaastad, Ø. V., Haug, E. & Bjälle, J. G. 2011. Ihminen - fysiologia ja anatomia. Helsinki: WSOYpro Oy.

Sequeiros, G. B., Nurmi, M. & Salminen, E. 2007. Virtsaelinten syöpä. Teoksessa Joensuu, H., Roberts, P. J., Teppo, L. & Tenhunen, M. (toim.) Syöpätaudit. 3. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 411-419.

Suomen Bioanalytikkoliitto ry. 2012. Kliininen histologia ja sytologia. Luettu 17.8.2012.  
[www.bioanalytikkoliitto.fi/bioanalyttikon\\_ammatti/erikoisalat/kliininen\\_histologia\\_ja\\_sytologi/](http://www.bioanalytikkoliitto.fi/bioanalyttikon_ammatti/erikoisalat/kliininen_histologia_ja_sytologi/).

Suomen Syöpärekisteri. Tilastot. Elossaolevien syöpäpotilaiden lukumäärät 1.1.2011, primaaripaikoittain ja diagnoosista kuluneen ajan mukaan, MIEHET. Päivitetty 6.8.2012. Luettu 16.8.2012. [stats.cancerregistry.fi/stats/fin/vfin0033p0.html](http://stats.cancerregistry.fi/stats/fin/vfin0033p0.html).

Suomen Syöpärekisteri. Tilastot. Elossaolevien syöpäpotilaiden lukumäärät 1.1.2011, primaaripaikoittain ja diagnoosista kuluneen ajan mukaan, NAISSET. Päivitetty 6.8.2012. Luettu 16.8.2012. [stats.cancerregistry.fi/stats/fin/vfin0034p0.html](http://stats.cancerregistry.fi/stats/fin/vfin0034p0.html).

Suomen Syöpärekisteri. Tilastot. Keskimääräiset syöpätapauksien määrät vuosina 1964-2010 primaaripaikoittain ja kalenterijaksoittain, MIEHET. Päivitetty 6.8.2012. Luettu 16.8.2012. [stats.cancerregistry.fi/stats/fin/vfin0003i0.html](http://stats.cancerregistry.fi/stats/fin/vfin0003i0.html).

Suomen Syöpärekisteri. Tilastot. Keskimääräiset syöpätapauksien määrät vuosina 1964-2010 primaaripaikoittain ja kalenterijaksoittain, NAISSET. Päivitetty 6.8.2012. Luettu 16.8.2012. [stats.cancerregistry.fi/stats/fin/vfin0004i0.html](http://stats.cancerregistry.fi/stats/fin/vfin0004i0.html).

Suomen Syöpärekisteri. Tilastot. Yleisimmät syövät vuonna 2010, MIEHET. Päivitetty 6.8.2012. Luettu 16.8.2012. [stats.cancerregistry.fi/stats/fin/vfin0020i0.html](http://stats.cancerregistry.fi/stats/fin/vfin0020i0.html).

Suomen Syöpärekisteri. Tilastot. Yleisimmät syövät vuonna 2010, NAISSET. Päivitetty 6.8.2012. Luettu 16.8.2012. [stats.cancerregistry.fi/stats/fin/vfin0021i0.html](http://stats.cancerregistry.fi/stats/fin/vfin0021i0.html).

Syöpäjärjestöt. Syöpäsanasto. nd. Luettu 27.6.2012.  
[www.cancer.fi/tietoasyovasta/tiedonlahteita/syopasanasto3](http://www.cancer.fi/tietoasyovasta/tiedonlahteita/syopasanasto3).



Syöpäjärjestöt. 2008. Virtsarakon syöpä. Päivitetty 15.1.2008. Luettu 27.6.2012. [www.cancer.fi/tietoasyovasta/syopataudit/virtsarakon\\_syopa](http://www.cancer.fi/tietoasyovasta/syopataudit/virtsarakon_syopa).

Takahashi, M. 2000. Color Atlas of Cancer Cytology. 3. painos. Tokio: Igaku-Shoin Ltd.

Timonen, T. 1998. Sytologia. Teoksessa Rantala, I. & Lounatmaa, K. (toim.) Biologinen valomikroskopia. Helsinki: Helsingin yliopisto, 86-87.

Tuokko, S., Rautajoki, A. & Lehto, L. 2008. Kliiniset laboratorionäytteet – opas näytteiden ottoa varten. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi.

Tuomi, J. 2008. Tutki ja lue. Johdatus tieteellisen tekstin ymmärtämiseen. 1.-2. painos. Jyväskylä: Kustannusosakeyhtiö Tammi.

Vilkka, H. 2007. Tutki ja mittaa. Määrällisen tutkimuksen perusteet. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi.

Villicana, P., Whiting, B., Goodison, S. & Rosser, C. J. 2009. Urine-based assays for the detection of bladder cancer. Biomarkers in Medicine 3 (3), 265-274.

Zuidema, G. D. (toim.) 1997. The Johns Hopkins Atlas of Human Functional Anatomy. 4. painos. Lontoo: The Johns Hopkins University Press.

# LIITTEET

## LIITE 1

### VIRTSAAN IRTOSOLUTUTKIMUKSEN POTILASOHJE (PHSOTEY 2009)

<b>POTILASOHJE</b>	Päijät-Hämeen sosiaali- ja terveysyhdistys Lääketieteellisten palvelujen keskus Keskussairaalankatu 7, 15850 Lahti Puhelinvaihe (03) 819 11 <a href="http://www.phsotey.fi">www.phsotey.fi</a>
<b>VIRTSAAN IRTOSOLUTUTKIMUS</b>	
<b>Näyte</b>	
Virtsaan irtosolututkimukseen tarvitaan noin 50 ml puhtaasti laskettua keskivirtsaa, joka otetaan 2-4 kuluttua edellisestä virtsaamisesta. Yön yli rakossa ollut virtsa ei sovellu tutkimukseen. Näytettä ei suositella otettavaksi kuukautisten aikana.	
<b>Näytteenotto</b>	
Näytteen huonon säilyvyyden vuoksi suositellaan näytteen ottamista laboratoriossa. Tarvittaessa voidaan näyte kuitenkin ottaa kotona alla olevia ohjeita noudattaen. Näytteenottovälineet saatte tarvittaessa hoitoyksiköstänne.	
<b>Näytteenotto laboratoriossa</b>	
Näytteenottoastiana käytetään puhdasta kertakäyttöastiaa.	
Peskää kädet.	
Naiset: Levittäkää häpyhuulet erilleen.	
Miehet: Vetäkää esinahka taaksepäin.	
Tehkää alapesu pelkällä vedellä. Kuivatkaa lopuksi paperilla.	
Aloittakaa virtsaus WC-altaaseen. Viekää näytepurkki virtsasuihkun alle ja ottakaa näyte. Loppuvirtsan voitte laskea hukkaan.	
<b>Näytteenotto ja näytteen käsittely kotona</b>	
Esivalmistelu edellisenä iltana:	
Laittakaa kylmäkuljetuskotelon kylmävaraajat (valkoiset, 2 kpl) pakastelokeroon.	
Näyte otetaan samalla tavalla kuin laboratoriossa, katsokaa yllä oleva ohjetta.	
Täyttäkää kierrekannellinen näytepurkki virtsalla ja sulkekaa se huolellisesti. Varmistakaa, että purkkiin on liimattu henkilötietotarra. Laittakaa suljettu näytepurkki muovipussissa kylmävaraajien väliin kuljetuskoteloon.	
Näyte pitää toimittaa laboratorioon tunnin kuluessa.	
<b>Tiedustelut</b>	
Tutkimusta koskevia tarkempia tietoja saatte teitä hoitavasta yksiköstä.	
U.Syfo	1/1
28.10.2009 ERP	

## LIITE 2

VASTAUSESIMERKKI VIRTSAAN IRTOSOLUVALMISTEESTA PATOLOGIAN  
LABORATORIOSSA (PHSOTEY 2011c)

Valmistunut	2011	Hinta:
Tutkimus: U -Sytö		
Jakopäivä:	2011	Kenelle jaettu:
Tila:	Kuitattu	
Tallennettu:		
Huomioitavaa:		
U-sytö kokeilu vakuumputkilla. A-lasi: rutiini käsittely /B-lasi :vakuumputkikäsittely/lr		
NÄYTETYYPPI	Virtsa	
NÄYTTEEN RUNSAUS		
TULEHDUSSOLUT		
Neutrofiileja:	Vähän	
Lymfosyyttejä:	Vähän	
MUUT SOLUT		
Levyepiteelisoluja:	Vähän	
Uroteelisoluja:	Kohtalaisesti	
Erytrosyyttejä:	Vähän	
MIKROBIT		
	MUUTA: Kiteitä	
ARVIOINTIA HÄIRITSEE:	Degeneraatio	
<b>Papa-luokka: 3</b>	<b>Esitark. papa lk: 3</b>	
Esitarkastaja(t):		
Muutamia papillaarisia soluryhmiä, joissa kohonnut tuma-sytolasmasuhde ja lievästi hyperkromaattiset tumat.		
<b>SD: Virtsa: Lievä maligniteettiepäily</b>		
Patologia, puh. 03-819 2452, fax 03-819 2410		

## LIITE 3: 1 (3)

## HAVAINNOINTITAUUKKO

Näyte	Solukkuus A	Solukkuus B	Morfologia A	Morfologia B	Ryhmitys A	Ryhmitys B	Papa- luokka A	Papa- luokka B	Patologin lausunto
1	++	++	Suolirakko. Muuten ei erityistä.	Sama.	-	-	1	1	Runsaasti neutrofiileja, sopii akuuttiin tulehdukseen. Muilta osin löydös sopii suolirakkoon.
2	+	+	Degeneraatiota.	Sama.	-	-	1	1	Arviointia häiritsee niukka näyte ja degeneraatio.
3	++	++	Suurentunut tuma- sytoplasmasuhde. Lievää hyperkromasiaa.	Sama.	++	++	3	3	Pieniä tuma- sytoplasmasuhteitaan häiriintyneitä uroteelisoluryhmiä, joissa tumien hyperkromasiaa.
4	+++	+++	Suolirakko. Muuten ei erityistä.	Sama.	-	-	1	1	Suolirakkoon sopiva löydös. Arviointia häiritsee degeneraatio ja tulehdus.
5	++	++	Lievästi suurentunut tuma- sytoplasmasuhde. Hyperkromasiaa.	Sama.	++	+	2	2	Uroteelisoluja huomattavasti normaalia runsaammin, niiden tuma-sytoplasmasuhde lähellä normaalia eikä tumissa selvää atypiaa.
6	++	++	Suurentunut tuma- sytoplasmasuhde. Hyperkromasiaa. Degeneraatiota.	Sama.	++ joista osa papillaarisia soluryhmiä.	+ Ryhmät pienempiä. Ei papillaarisia ryhmiä.	3	3	Muutamia papillaarisia soluryhmiä, joissa kohonnut tuma- sytoplasmasuhde, lievästi hyperkromaattiset tumat. Arviota häiritsee degeneraatio.
7	++	++	Ei erityistä.	Sama.	-	-	1	1	-
8	++	++	Rakeinen tuman kromatiini. Hyperkromasiaa.	Sama.	+ joista osa papillaarisia soluryhmiä.	+ joista osa papillaarisia soluryhmiä.	2	2	Normaalia runsassoluisempi näyte, jossa uroteelisolujen tuma-sytoplasmasuhde kuitenkin normaalin rajoissa.
9	++	++	Suolirakko. Muuten ei erityistä.	Sama.	-	-	1	1	Suolirakkoon sopiva löydös.

## LIITE 3: 2 (3)

10	++	+	Papillaarisissa ryhmissä atyyppisia soluja. Muuten ei erityistä.	Sama.	++ joista osa papillaarisia soluryhmiä.	+ VAIN YKSI PAPILLAARINEN SOLURYHMÄ.			3	2	Muutamia papillaarisia, tuma-sytoplasmasuhteeltaan häiriintyneitä uroteelisoluryhmiä.
11	+++	+++	Suurentunut tuma-sytoplasmasuhde. Hyperkromasiaa. Suuria soluja. Rakeinen kromatiini. Atyypiset solut sekä yksittäisinä että ryhmissä.	Sama.	++ joista osa papillaarisia soluryhmiä.	+ joista osa papillaarisia soluryhmiä.			4	4	Atyyppista uroteelia yksittäisinä soluina ja pieninä papillaarisina soluryhminä. Vahvasti epäilyttävä uroteelikarsinooman tai carsinoma in situ suhteen.
12	++	++	Suurentunut tuma-sytoplasmasuhde. Rakeinen kromatiini.	Sama.	+ Papillaarisia soluryhmiä 2 kpl.	+ VAIN YKSI PIENI, EI PAPILLAARINEN RYHMÄ.			3	2	Pari papillaarista tuma-sytoplasmasuhteeltaan häiriintynyttä uroteelisoluryhmää. Lievästi epäilyttävä uroteelikarsinooman residiviin suhteen.
13	++	++	Tuma-sytoplasmasuhde suurentunut. Hyperkromasiaa. Korostuneet tuman nukleolit.	Sama.	++ joista osa papillaarisia soluryhmiä.	+++ joista osa papillaarisia soluryhmiä. ENEMMÄN PAPILLAARISIA RYHMIÄ KUIN A-NÄYTTEESSÄ.			4	4	Atyyppisia tuma-sytoplasmasuhteeltaan häiriintyneitä uroteelisoluja yksittäin ja pienissä soluryhmissä. Osassa soluja voimakas tuma- atypia. Vahvasti epäilyttävä uroteelikarsinooman residiviin suhteen.
14	++	++	Hyperkromasiaa. Yksittäisiä atyyppisia soluja.	Sama.	++	+ PIENEMPIA SOLURYHMIÄ kuin A-näytteessä.			2	2	Uroteelisoluiissa reaktiivisia muutoksia. Arviointia häiritsee degeneraatio.
15	++	++	Lievää hyperkromasiaa.	Sama.	++	++			2	2	Reaktiivisesti muuntunutta uroteelisolukkoa.
16	++	++	Tulehduksen aiheuttamia reaktiivisia muutoksia.	Sama.	+	+ PIENEMPIA SOLURYHMIÄ kuin A-näytteessä.			2	2	Akuutti tulehdus. Uroteelisoluiissa tulehdukseen liittyviä reaktiivisia muutoksia.
17	++	++	Reaktiivisia soluja ryhmissä.	Sama.	++	++			2	2	Reaktiivisesti muuntunutta pinnallista uroteelia.
18	Valmiste lähetetty laadunatarakkailuun, ei voitu mikroskopoida.										
19	+	+	Degeneraatiota.	Sama.	-	-			1	1	Ei soluatiypia.
20	++	++	Ei erityistä.	Sama.	-	-			1	1	Ei soluatiypia.
21	++	++	Muutamia hyperkromaattisia soluja ryhmissä.	Sama.		+	+	2	2	2	Muutama reaktiivisesti muuntunut uroteelisoluryhmä.

## LIITE 3: 3 (3)

22	++	++ (veri häiritsee)	Yksittäisiä ja ryhmissä olevia lievästi atyyppisia, hyperkromaattisia soluja, joissa tuma-sytoplasmasuhde hieman suurentunut.	Sama. (veri häiritsee)	+	+	2	2 (arviointi epäluotettava veren vuoksi)	Reaktiivisesti muuntuneita pinnallisia uroteelisoluja, runsaasti punasoluja.
23	++	++	Yksittäisiä atyyppisen näköisiä soluja, joissa tuma-sytoplasmasuhde suurentunut ja joissa tuma hyperkromaattinen ja kromatiini kokkareinen. Myös ryhmissä soluja, joista osassa hyperkromaattiset ja pyknoottiset tumat. Korostuneet nukleolit.	Sama.	++	++	3	3	Atyyppisia uroteelisoluja yksittäin ja pienissä ryhmissä. Lievästi epäilyttävä uroteelikarsinooman suhteen.
24	++	++	Kasoissa soluja, joissa pyknoottiset tumat. Muutama yksittäinen atyyppisen näköinen solu, jossa suurentunut tuma-sytoplasmasuhde ja hyperkromasiaa.	Sama.	++	++	2	2	Normaalia runsassoluisempi näyte. Lieviä reaktiivisia muutoksia uroteelisoluihin.
25	+	+	Ei erityistä.	Sama.	+	+	1	1	Ei soluatiypiaa.
26	+	+	Ei erityistä.	Sama.	-	-	1	1	Ei soluatiypiaa.
27	+	+	Muutamia reaktiivisia soluja pienissä ryhmissä.	Sama.	+	+	2	2	-
28	+	+	Ei erityistä.	Sama.	+	-	1	1	Ei soluatiypiaa.
29	+	+	Ei erityistä.	Sama.	+	+	1	1	Ei soluatiypiaa.
30	++	++	Reaktiivisia soluja pienissä ryhmissä.	Sama.	++	++	2	2	Uroteelisoluihin reaktiivisia muutoksia.